

**PROGRAMA INTERUNIDADES DE PÓS GRADUAÇÃO EM
ANÁLISE AMBIENTAL INTEGRADA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE DE *PELLETS* NAS PRAIAS DO LITORAL PAULISTA E SEUS EFEITOS
ECOTOXICOLÓGICOS EM AMBIENTES MARINHOS**

GABRIEL IZAR MENDES

**Santos
2016**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE DE *PELLETS* NAS PRAIAS DO LITORAL PAULISTA E SEUS EFEITOS
ECOTOXICOLÓGICOS EM AMBIENTES MARINHOS**

GABRIEL IZAR MENDES

RONALDO ADRIANO CHRISTOFOLETTI
CAMILO DIAS SEABRA PEREIRA
AUGUSTO CESAR

Dissertação apresentada ao
programa de Pós Graduação de
Análise Ambiental Integrada da
Universidade Federal Paulista, para
a obtenção de Título de Mestre em
Análise Ambiental Integrada.

**Santos
2016**

Izar Mendes, Gabriel

Análise de *pellets* nas praias do litoral paulista e seus efeitos ecotoxicológicos em ambientes marinhos / Gabriel Mendes Izar – – Diadema, 2016.

54 p.

Dissertação de Mestrado (Programa de Pós Graduação em Análise Ambiental Integrada) - Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2016.

Orientadores: Ronaldo Adriano Christofolletti

Augusto Cesar

Camilo Dias Seabra Pereira

1.*Pellets* 2.Ecotoxicologia 3.*Nitokra* sp. 4.*Lytechinus variegatus* 5.*Tiburonella viscana* I. Título.

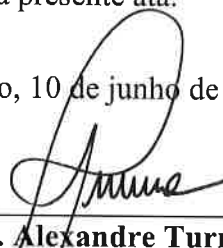
CDD 577.627



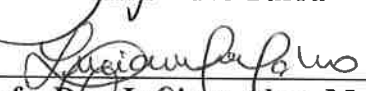
Serviço Público Federal
Universidade Federal de São Paulo
Pró – Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

Em face dos referidos pareceres, a Comissão Julgadora considera o aluno **GABRIEL IZAR MENDES** Aprovado (Aprovado/Reprovado) a receber o título de **MESTRE EM CIÊNCIAS** pela UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. E, por estarem de acordo, assinam a presente ata.

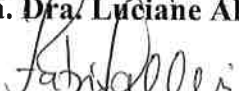
São Paulo, 10 de junho de 2016.



Prof. Dr. Alexandre Turra



Profª. Dra. Luciane Alves Maranhão



Profª. Dra. Fabiane Gallucci



Prof. Dr. Ronaldo Adriano Christófoli

"Amor e flow, muito flow, respeita quem pôde chegar aonde a gente chegou!" (Emicida - Zica, Vai Lá)

*Dedico aos meus companheiros de pêlos e quatro patas que fazem e fizeram da minha vida mais feliz
a cada lambida e abanar de rabo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que fizeram parte deste trabalho, de alguma forma. Seja em campo tomando sol e chuva, seja em laboratório me auxiliando em incansáveis trabalhos manuais, ou com simples palavras de incentivo e pensamentos positivos para que tudo desse certo. Esse trabalho é de todos vocês, ninguém faz nada sozinho, e agradeço de coração a todos que são parte deste trabalho.

Em especial aos meu orientadores, Ronaldo, Camilo e Augusto que abraçaram a ideia e acreditaram no potencial do projeto e da orientação tripla, algo que é inovador em nosso país. Ao meu eterno orientador e amigo Denis, que mesmo não estando oficialmente na orientação, sempre me ajudou e apoiou em cada etapa.

Aos amigos de laboratório, NEPEA da UNESP e Laboratório de Ecotoxicologia da UNISANTA, em especial Lucas, Caio, Lu, Ney, Sinhá, Guacira, Bruna, Itaquera, Julieta, Mazoca, Binho e Carolzíssima. Sem vocês este trabalho não teria acontecido. A todos que me ajudaram nas muitas coletas e nas dúvidas do dia a dia: Seu Bosta, Tadinho, Mari, Fiofô, Bicudo, Anarco, Lamark, Sustagem, Mogli, Bis, Nóia, Monteiro e Thilo; A Lari que me deu todo incentivo necessário para encarar este novo desafio e etapa da vida; Ao Geléia, o irmão mais velho que não tive, meu companheiro de república, de todas as piores coletas imagináveis e de horas no laboratório, inclusive de final de semana; Ao Fefo, o oráculo de sabedoria e também um ótimo irmão, sempre com ótima palavras nas horas certas; Aline, a amizade improvável do mestrado, uma fiel companheira e uma ótima professora, me ensinando tudo sobre laboratório, e uma maravilhosa amiga. Meti, minha companheira desde as primeiras Semanas da Bio que organizamos na graduação, até agora no mestrado; Tan, meu melhor amigo; a Grati, por estar sempre do meu lado, nas horas boas e ruins, coletando na chuva, com carro quebrado, nas diversas trilhas, sempre disposta a ajudar e sorrindo, companheira maravilhosa; E ao Olavo, meu eterno irmão.

Agradeço ao meu carro por aguentar todo o tranco e quilometragens de coleta, e a Porto Seguro que me resgatou em um lugar inóspito, quando o carro não aguentou mais. Agradeço também a todos que me cederam um teto para passar a noite pelo litoral de São Paulo, sem vocês este trabalho também não teria acontecido.

Não poderia de deixar de agradecer minha família, em especial minha mãe que é responsável por tudo que sou hoje. Minha vó e tia avó, que nem tenho palavras para agradecer. Aos meu padrinhos, por todo suporte e carinho, e aos meus familiares na Argentina, que mesmo longe, estão sempre presentes.

As minhas cachorras maravilhosas, que me ensinaram, sem dizer uma palavra, muito mais que qualquer professor, fazendo eu amar cada vez mais a vida. Tucha, Niki e Pad, que estejam em paz no paraíso dos cãesinhos, e não se preocupem que a Maya está fazendo um ótimo papel aqui comigo.

Não poderia faltar a CAPES que financiou o projeto, possibilitando sua execução e minha sobrevivência durante o período do mestrado.

Por fim, não posso esquecer de agradecer todos os professores que tive até aqui, eles são os principais responsáveis pelo que sou, e por ter chegado até aqui. Eternamente grato a cada um de vocês. Agradeço por ter tido a oportunidade de chegar até aqui, e por ser biólogo.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
CONTEXTUALIZAÇÃO	3
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1. Análise quantitativa de pellets no litoral de São Paulo	13
2.1.1. Qual a zona praial mais adequada para se amostrar densidade de pellets?	13
2.1.2. Existe um gradiente de densidade de pellets em praias relacionado com a distância portuária?	13
2.2. Efeitos ecotoxicológicos de pellets não ingeridos em ambientes marinhos	15
2.2.1. Pellets são capazes de conferir toxicidade para organismos marinhos em exposição não- ingerida?	16
2.2.1.1 Ensaio embriolarval com <i>Lytechinus variegatus</i> (Echinodermata, Echinoidea)	16
2.2.1.2 Ensaio de toxicidade crônica com <i>Nitokra</i> sp.	17
Também foi analisada o efeito agudo dos pellets para as fêmeas adultas de cada tratamento, por meio da sobrevivência das fêmeas após o período de exposição.	18
2.2.2. Em qual densidade de exposição a presença do pellet se torna toxica para organismos marinhos?	18
2.2.3. Análise estatística dos testes de ecotoxicidade.	19
3. RESULTADOS	20
3.1 Análise quantitativa de pellets no litoral de São Paulo	20
3.2. Efeitos ecotoxicológicos de pellets não ingeridos em ambientes marinhos	24
4. DISCUSSÃO	30
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	36

RESUMO

Pellets são pequenos grânulos de resina com poucos milímetros (>5 mm), produzidos e utilizados em grande escala, que estão entre os resíduos sólidos mais encontrados em praias em todo o mundo. São materiais persistentes e geralmente adsorvem compostos químicos, representando uma forte ameaça para a fauna marinha e o ambiente costeiro em geral. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a densidade de *pellets* na camada superficial do sedimento em praias do litoral de São Paulo, tentando estabelecer uma relação entre a distribuição espacial ao longo do litoral paulista e a distância de uma fonte emissora de *pellets*. Testamos a hipótese de que os *pellets* presentes na camada superficial estejam concentrados nas proximidades da zona portuária de Santos, por se tratar do principal emissor de *pellets* da região. Em seguida, testamos a toxicidade dos *pellets* para organismos marinhos e alguns fatores que colaboram para tal toxicidade, coloração, local de coleta (praia) e a densidade encontrada nas praias do litoral paulista. Para determinar a distribuição de *pellets* no litoral paulista, foram selecionadas doze praias do litoral de São Paulo, com diferentes distâncias do Porto de Santos. Os *pellets* foram coletados na camada superficial de areia (5 cm), no limite superior do pós-praia, com vinte réplicas por praia. Para os testes de ecotoxicidade, foram coletados *pellets* em duas praias de regiões contaminadas e duas com menor nível de contaminação, de maneira ativa e manual. Os testes de ecotoxicidade foram realizados com ouriços do mar (*Lytechinus variegatus*), anfípodos (*Tiburonella viscana*) e copépodes (*Nitokra* sp.), em ensaios para toxicidade aguda e crônica. Observou-se um gradiente decrescente de densidade de *pellets* ao longo do litoral paulista, tanto para as praias do norte, quanto para o sul do Porto de Santos, com maiores densidades dentro da Baía de Santos, onde o porto está localizado. Além da distância portuária, diversos outros fatores podem ter influenciado na dispersão de *pellets* na costa de São Paulo, entre eles fatores ambientais não testados neste trabalho, como a direção do ventos e das correntes superficiais da região e a geografia da costa, que aparentam ser fatores importantes a serem avaliados para a dispersão de *pellets* nas zonas costeiras. *Pellets* apresentaram toxicidade crônica para ambos os organismos testados (*L. variegatus* e *Nitokra* sp.) em densidades extremamente altas, no entanto não foram capazes de conferir toxicidade aguda nas densidades encontradas no litoral paulista e literatura (*T. viscana*). A alta variabilidade da concentração de contaminantes adsorvidos em cada *pellet* pode ser um fator de maior influência para a toxicidade de *pellets*, do que o fator densidade testado neste trabalho.

Palavras-Chave: *pellets*; impacto costeiro; ensaios de toxicidade; copépodes; ouriço do mar, anfípodo.

Financiamento: CAPES

ABSTRACT

Pellets are small grains of resin with a few millimeters (>5 mm), produced and used in large scale, that are among the most found debris in beaches all over the world. It is persistent materials and usually adsorb chemicals compounds, representing a strong harmful to the marine animals and coastal environment in general. This study aim to evaluate the pellets density in the superficial layer in beaches in São Paulo coast, trying to establish a relationship between the spatial distribution along the coast and the distance from a pellet source. We tested the hypothesis that the pellets in the superficial layer were concentrated close to the Santos port, because it is the main pellets source for the area. Then, we tested the toxicity to marine organism and some factors that contribute to this toxicity, like pellets coloration, sampling site (beach) and the density find in the São Paulo coast. To the pellets distribution, twelve beaches were selected in São Paulo coast, with different distances of Santos port. Pellets were collected in the superficial sand layer (5 cm), on the high upper beach limit, with twenty samples per beach. For the ecotoxicity assays, pellets were manually and actively collected in two beaches in two contaminated areas in different levels. These assays were tested with urchin (*Lytechinus variegatus*), amphipod (*Tiburonella viscana*) and copepod (*Nitokra* sp.), in acute and chronic assay. It was noted a decreasing gradient of pellets density along the São Paulo coast, both north and south of Santos port, with higher densities inside the Santos bay, where the port is located. Beyond to the port distance, several other factors may have influenced the dispersion of pellets in São Paulo coast, including environmental factors not assessed in this study, like wind and superficial currents direction and the coast geography, that seem to be a important factor to pellets dispersion in coastal areas. Pellets showed chronic toxicity for both tested organism (*L. variegatus* and *Nitokra* sp.) at extremely high densities, however, they were not capable to confer acute toxicity in densities founded in São Paulo Beaches for and literature for *T. viscana*. The high variability of adsorbed contaminants concentration in each pellet can be a factor with more influence for the pellet toxicity, than the pellets density factor tested in this study.

Key-words: pellets; coastal impact; toxicity assays; copepod; urchin, amphipod.

Financial support: CAPES

CONTEXTUALIZAÇÃO

O ambiente costeiro é um ecossistema dinâmico sujeito a diversos fatores abióticos (ondas, marés, ventos e correntes) (Suguio, 1992). Em um contexto mundial, podemos encontrar as maiores e mais importantes cidades do mundo em regiões costeiras. As facilidades de escoamento de mercadorias e de acesso aos recursos naturais essenciais à manutenção e dinâmica das grandes metrópoles incentiva esta ocupação das áreas mais costeiras do globo e, com isso, diversos impactos ambientais antrópicos são identificados nestes ambientes. Entre os principais impactos antrópicos, merece destaque a alta produção e má destinação dos resíduos sólidos.

Resíduos sólidos no ambiente marinho ou costeiro são comumente denominados de **Lixo Marinho**. De acordo com a *National Academy of Science* (NAS, 1975), lixo marinho pode ser definido como materiais sólidos de origem humana descartados no mar ou que tenham seu destino ao mesmo por meio de fluxos hídricos, efluentes domésticos ou industriais. De maneira geral, produtos manufaturados ou materiais sólidos processados que persistem no ambiente e são descartados, dispostos ou abandonados no ambiente marinho e costeiro também podem ser considerados lixo marinho em potencial (UNEP, 2005; NOAA, 2012). O lixo marinho pode se distribuir no ambiente costeiro em diferentes formas: flutuando na superfície dos oceanos, em diferentes profundidades da coluna d'água, enroscados nas áreas rasas, encalhados nas praias, ou dispersos no fundo oceânico (UNEP, 2005; Gordon, 2006).

Por sua degradação, normalmente, muito lenta, o lixo marinho varia entre os plásticos, os metais, e o vidro. Em muitas regiões, os plásticos vêm sendo o principal tipo de resíduo encontrado no ambiente marinho (Hammer *et. al*, 2012; Gregory, 1983; Antunes *et al.*, 2013), aumentando significativamente nos oceanos do mundo (Gordon, 2006), compreendendo de 90-95% do total do lixo marinho encontrado (Milijö, 2001). Este fato desperta uma certa preocupação na comunidade científica, pois sabe-se que os plásticos são poluentes orgânicos persistentes na água, e que podem transportar variados contaminantes orgânicos nos oceanos, além de apresentarem-se como ameaças para a fauna marinha (NOAA, 2012; Barnes *et. al*, 2009).

Microplásticos, definidos por diversos autores como plásticos menores do que 500µm (5 mm) (Hammer *et al.*, 2012; Liebezeit & Dubaish, 2012), podem ter como origem tanto a fábrica (matéria-prima, como os *pellets*), quanto pequenos fragmentos de plásticos maiores. Ambos possuem características muito heterogêneas, tanto em tamanho, forma, coloração, quanto para composições químicas e densidade (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012). Os microplásticos estão em maior abundância nos oceanos, mais do que os plásticos de maior tamanho, embora estes muitas vezes sejam a fonte dos microplásticos (Day *et al*, 1990). Por conta disso, os microplásticos despertam um interesse especial por se acumularem nos oceanos há pelo menos quatro décadas e, principalmente, por serem bastante

ingeridos pela fauna marinha (Thompson *et al.*, 2004), apresentando-se como uma importante ameaça para o meio ambiente.

Dentre os microplásticos encontrados no lixo marinho, os *pellets* têm chamado bastante atenção dos pesquisadores. De acordo com a *International Pellets Watch* (2012), *pellets* são pequenos grânulos de plásticos, geralmente cilíndricos ou de formas arredondadas com poucos milímetros. Também chamados de plásticos virgens (Gregory, 1978; Costa *et al.*, 2010; Shiber, 1982) ou de resinas termoplásticas (Abiplast, 2014), os *pellets* são definidos como grânulos de plásticos utilizados e comercializados como matéria-prima para a confecção industrial dos mais variados objetos (Manzano, 2009; Karapanagioti & Klontza, 2007; Mato *et al.*, 2001, Ogata *et al.*, 2009). São basicamente constituídos de polietileno (PE) e polipropileno (PP) e possuem diversas colorações, variando do âmbar ao transparente, de acordo com sua composição química (Wilber, 1987), também sendo possível encontrar algumas colorações pigmentadas. *Pellets* são moldados desta forma, como microplásticos, para facilitar seu transporte, manipulação e processamento (Wilber, 1987). Transporte que é comumente realizado com a utilização de containers, por meio viário, e, principalmente, marítimo. No decorrer do transporte e do processo de manufaturamento dos *pellets*, estes podem ser depositados não intencionalmente no ambiente, tendo como destinação final o ambiente costeiro, seja pela liberação no próprio ambiente costeiro, ou pelo carreamento de rios que desaguam no mar (Carpenter and Smith, 1972; Gregory, 1978; Moore *et al.* 2001; Derraik, 2002; Takada *et al.*, 2006; Mato *et al.*, 2001; Heskett *et al.*, 2011, Ogata *et al.*, 2009).

Por suas características de peso, rigidez, durabilidade, os *pellets* persistem por um longo tempo no meio ambiente, com um demorado processo de degradação (Karapanagioti & Klontza, 2007; Hammer *et al.*, 2012; Thompson *et al.*, 2009; Pruter, 1987). O tempo de vida dos plásticos no ambiente marinho pode variar dependendo da intensidade dos diferentes fatores de degradação atuantes no local (Karapanagioti & Klontza, 2007). Sendo assim, os *pellets* podem ser encontrados em grandes densidades tanto nos oceanos quanto em regiões costeiras com distribuição desigual (Thompson *et al.* 2004), sendo muito influenciáveis por fatores físicos, como correntes, ventos, geografia da linha de costa e focos de emissão (Barnes *et al.*, 2009). Além do mais, por serem persistentes e possuírem baixas densidades, os *pellets* não afundam no sedimento, podendo ser transportados para o oceano aberto (Hirai *et al.*, 2011) e serem encontrados em todos os oceanos do mundo (Mato, *et al.*, 2001).

Diversos trabalhos descrevem a presença de *pellets* em ambientes costeiros, comprovando tal preocupação no meio científico. Carpenter & Smith Jr (1972), foram os primeiros a encontrar *pellets*, coletando uma média de 3.500 partículas de plásticos (sendo boa parte *pellets*) por quilômetro quadrado (km²), em suas amostragem de *Sargassum* pelagial no Mar dos Sargãos. Estudos também realizados em outras regiões, como no Atlântico Norte (Wilber, 1987) com 1.500 *pellets* por km² e

no Pacífico Norte 531 *pellets* por km² (Moore, *et al.* 2001), reforçam a ideia da relevância deste tipo de resíduo sólido no contexto do lixo marinho.

Nas regiões costeiras, este problema também vem sendo evidenciado em diversos trabalhos. Plásticos são muito comuns de serem encontrados em praias (Hammer *et al.*, 2012), e os *pellets*, especificamente, podem ser utilizados como modelos para a dispersão de microplásticos, uma vez que são fáceis de serem avaliados e possuem ampla distribuição no ambiente marinho (Turra *et al.*, 2014). Trabalhos em diversas praias do mundo já abordam a presença e distribuição deste tipo de lixo marinho, como na Nova Zelândia (Gregory, 1978), Havaí (McDermid & McMullen, 2004; Cooper & Corcoran, 2010), Hong Kong (Zurcher, 2009), e muitos outros locais. No entanto, a maioria dos estudos realizados têm como foco principal a avaliação da carga de contaminantes associados aos *pellets* e não a presença e distribuição dos mesmos (Van Cauwenberghe *et al.*, 2015). No Brasil, esta tendência também é seguida, com poucos os estudos realizados com o enfoque em *pellets*. Contudo, há alguns levantamentos realizados em praias de Fernando de Noronha (Ivar do Sul, 2009), no Rio Grande do Sul (Pianowski, 1997), Recife (Costa *et al.*, 2010) e nas praias da Baixada Santista, no litoral de São Paulo (Manzano, 2009; Turra *et al.*, 2014; Mendes, 2012). Com tudo, mesmo com inúmeros trabalhos descrevendo e qualificando a presença de *pellets* em ambientes marinhos e costeiros, apenas se sugere que a distribuição esteja relacionada com a presença de portos e atividades de transporte de *pellets*, porém, nunca se foi testado e comprovado tal influência. Essa informação é importante de se obter para melhor se compreender a dinâmica de distribuição de *pellets*, podendo ser utilizada em futuras previsões de distribuição e acumulação dos mesmos no ambiente costeiro.

Dentre os impactos causados por *pellets* à fauna marinha, podemos destacar a ingestão (Laist, 1987) destes contaminantes por diversas espécies de animais, como albatrozes, documentados no trabalho de Auman *et al.* (1997); diversas aves marinhas (Moser & Lee, 1992), tartarugas marinhas (Tomás *et al.*, 2002; Tourinho *et al.*, 2010; Bjorndal *et al.*, 1994), peixes mesopelágicos (Davison & Asch, 2011); e em cetáceos (Baird & Hooker, 2000). Thompson *et al.* (2009), coloca que um amplo número de espécies filtradoras, depositívoras e detritívoras também possuem relatos de ingestão de microplásticos, porém as consequências desta ingestão para este grupo ainda são desconhecidos. Para a ingestão de *pellets* nos demais grupos citados, sabe-se de impactos negativos com relação ao bloqueio do trato intestinal, à redução do apetite, e à exposição a compostos químicos sorvidos aos *pellets* (Endo *et al.*, 2005; Milijö, 2001).

Sabe-se também que alguns animais marinhos, como briozoários, cracas, poliquetas, hidrozoários e moluscos; microrganismos, como diatomáceas e algas filamentosas e coralíneas; e alguns insetos que habitam a tensão superficial dos oceanos se dispersam pelos oceanos por meio de transportes de lixos marinhos, incluindo *pellets*, de uma região para a outra (Barnes, 2002; Barnes &

Milner, 2005; Gregory, 1978; Majer *et al.*, 2012), apresentando-se como uma importante ameaça ecológica quando se trata de dispersão de espécies exóticas. *Pellets* também podem interferir na temperatura do sedimento, aumentando a permeabilidade do mesmo e, conseqüentemente, elevando também a temperatura (Carson *et al.*, 2011), representando possíveis ameaças ecológicas para espécies que dependem da temperatura para determinar o sexo de sua prole.

Apesar de se apresentarem como uma potencial ameaça para o meio ambiente marinho; quando se trata da questão de contaminantes, os plásticos são considerados bioquimicamente inertes neste ambiente, pois sua estrutura macromolecular não é capaz de reagir e nem penetrar nas membranas celulares dos organismos (Hammer *et al.*, 2012). Contudo, os plásticos no ambiente marinho não são puros, ou seja, possuem uma série de compostos associados a suas estruturas, que ainda não se sabe ao certo como tais compostos interagem com os organismos marinhos, tanto em sua ingestão, quanto na simples presença do *pellet* no ambiente costeiro, em uma exposição sem ingestão.

Compostos químicos podem ser incorporados aos plásticos por duas maneiras: aditivos industriais e adsorção (Mato *et al.*, 2001; Hammer *et al.*, 2012; Karapanagioti & Klontza, 2007, Teuten *et al.*, 2009). O primeiro trata-se de compostos associados industrialmente aos polímeros dos plásticos para alterar ou promover características aos mesmos, como o Bisfenol A (BPA), os Ftalatos e os Retardantes de Chama (Hammer *et al.*, 2012; Koch & Calafat, 2009), como os difenil-ester-polibromatado (PBDE) e tetrabiromobifenol (TBBPA), que atuam como desreguladores hormonais, podendo causar disfunções nos sistemas reprodutivos e nervoso dos animais expostos (*Science for Environment Policy*, 2011). Já o outro se trata da adsorção de componentes orgânicos hidrofóbicos, presentes na água do mar, na superfície dos plásticos (Mato *et al.*, 2001; Karapanagioti & Klontza, 2007; Endo *et al.*, 2005; Heskett *et al.*, 2012; Ogata *et al.*, 2009). Devido à natureza de sua superfície, poluentes orgânicos (POPs) que persistem no ambiente marinho, normalmente hidrofóbicos, são sorvidos aos plásticos em concentrações mais altas do que na água salgada (Andrady, 2011), podendo chegar a fatores de concentração maiores que 10^6 (Mato *et al.*, 2001). Com isso, os *pellets* atuam como acumuladores de poluentes hidrofóbicos, podendo transferi-los para os organismos marinhos (Mato *et al.*, 2001). Esta alta afinidade com contaminantes hidrofóbicos, transforma os *pellets* em uma ferramenta de monitoramentos de POPs nas águas costeiras (Ogata *et al.*, 2009).

Entre os contaminantes encontrados associados aos *pellets*, podemos destacar os Hidrocarbonetos Poliaromáticos (PAH) que, em uma exposição elevada, podem ocasionar o desenvolvimento de cânceres nos locais de contato, pulmão, estômago e pele, além de diversos efeitos deletérios à saúde humana, como enfraquecimento das funções imunológicas, disfunções respiratórias, inflamações de pele, catarata e danos aos rins e fígado (*Science for Environment*

Policy, 2011). Os Bifenilos Policlorados (PCBs) que, devido suas características químicas, eram amplamente utilizado em processos industriais como fluidos dielétricos, lubrificantes, óleos hidráulicos, tintas e adesivos (Antunes *et al.*, 2013). Banido desde os anos 70, o PCB ainda persiste na natureza, e no ambiente marinho (Endo *et al.*, 2005), podendo ser incorporados à fauna marinha (Carpenter & Smith Jr, 1972; Ryan *et al.*, 1988). Pesticidas, mesmo com sua utilização também proibida nos anos 70, ainda encontram-se no ambiente, e também podem ser encontrados associados às partículas plásticas, como o Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) e seus produtos de degradação: o Dicloro-difenil-tricloroetileno (DDE) e Dicloro-difenil-dicloroetileno (DDD), apresentando-se como compostos bastante tóxicos, sendo relacionados com diabetes, disfunções reprodutivas e de desenvolvimento, e câncer em humanos (*Science for Environment Policy*, 2011).

Tendo a ingestão como uma importante rota de exposição a essas toxinas (Hirai *et al.*, 2011), existe uma preocupação de que estes compostos químicos possam desorver dos *pellets*, quando ingeridos, para o trato digestivo dos organismos marinhos (Endo *et al.*, 2005; Andrady, 2011; Mato *et al.*, 2001). Sabe-se, também, que a acidez gástrica pode aumentar a desorção de metais associados às partículas plásticas (Teuten *et al.*, 2009), o que pode acarretar em efeitos de bioacumulação e biomagnificação nos predadores de topo de cadeia (UNEP, 2011; Ritter & Solomon, 1995; Schwarzenbach *et al.*, 2003). Ryan *et al.* (1988), foi o primeiro a evidenciar que poderia haver uma assimilação química por animais marinhos, por meio da ingestão de plástico, e alguns outros trabalhos vêm ao encontro deste tema. No entanto, é necessário compreender como estes contaminantes associados aos *pellets* se comportam quando e expostos às condições naturais do ambiente costeiro para melhor entender essa transmissão à fauna marinha.

Para os humanos, além dos prejuízos estéticos e econômicos, a presença de *pellets* no ambiente marinho, principalmente nas praias, podem apresentar potenciais ameaças às crianças, por serem mais facilmente ingeridos (*Science for Environment Policy*, 2011). Contudo, os impactos para os humanos não se limita apenas à ingestão em crianças. Os impactos aos humanos estão intimamente ligados à concentração de contaminantes nos *pellets* e a sua exposição, tanto para os humanos quanto à fauna marinha local.

Ao mesmo tempo que os plásticos podem se comportar como carreadores de contaminantes para cadeia trófica, eles também acabam por promover uma persistência destes contaminantes no ambiente natural (Teuten *et al.*, 2009). O alto poder de acumulação de poluentes nos *pellets*, sugere um potencial transporte de contaminantes e uma grande ameaça para o ambiente marinho (Mato *et al.*, 2001), que merece ser melhor compreendido. Como já mencionado em parágrafos anteriores, na ingestão de *pellets* os efeitos já são bem compreendidos. No entanto, quando se trata da exposição sem ingestão deste tipo de lixo marinho, a lacuna ainda é grande. Para tentar começar a preencher esta lacuna de informações é necessário a compreensão da acumulação e variação espacial dos

pellets em ambiente costeiro, e identificar as diferentes formas e intensidade de contato destes com a fauna marinha.

As diferentes colorações dos *pellets* também têm sua importância, do ponto de vista da contaminação, uma vez que *pellets* amarelados possuem maiores concentrações de PCBs, além deste amarelamento representar um maior tempo de exposição à contaminantes nos oceanos (Endo *et al.*, 2005). *Pellets* virgens, por sua vez, também possuem sua carga de contaminantes aditivados de fábrica aos *pellets* que podem representar maior toxicidade para organismos marinhos, do que as altas concentrações de contaminantes hidrofóbicos dos *pellets* amarelados (Nobre *et al.*, 2015).

Desde que se estabeleça as relações entre as concentrações de contaminantes nos *pellets* e nas águas costeiras, Mato *et al.* (2002) e Endo *et al.* (2005), sugerem que estes sejam utilizados como indicadores de poluição marinha. Em 2006, Takada desenvolveu o *International Pellet Watch* (IPW), no qual *pellets* de todo o mundo são recebidos para análises químicas e determinação de suas concentrações e variações espaciais. Comparando os resultados obtidos pelo método de monitoramento proposto pelo IPW, com os métodos de monitoramento utilizando mexilhões, Endo *et al.* (2005) e Ogata *et al.* (2009), concluíram que os dados se correlacionavam, mostrando que o método do IPW é possível de ser aplicado como uma ferramenta de monitoramento de contaminantes em áreas costeiras. A vantagem do método do IPW é de ser extremamente barato e precisar de poucas amostras, quando comparado aos métodos convencionais de monitoramento (Mizukawa, 2013). Considerando o método do IPW, e a sugestão de Endo *et al.* (2005) que a contaminação presente nos *pellets* pode ser correlacionada com a contaminação da região em que foram encontrados, é possível que ocorra também uma correlação quanto a toxicidade dos *pellets* e o sedimento do local de sua coleta. Neste sentido, testes ecotoxicológicos com animais marinhos como modelo podem auxiliar no entendimento da toxicidade dos *pellets* para todo o ecossistema marinho, sendo esta a hipótese proposta neste trabalho.

Neste sentido, o presente trabalho contribui para a temática deste tipo de lixo marinho e seus impactos no ambiente costeiro, com informações sobre a distribuição e densidade de *pellets* em praias do Litoral Paulista, e seus possíveis efeitos ecotoxicológicos não-ingeridos para organismos marinhos. Em uma tentativa de unir a ecologia com a ecotoxicologia, seguindo a filosofia do programa de Mestrado de integralidade de áreas e possibilidade de orientações múltiplas, optou-se em apresentar os dados em um único artigo que será apresentado a seguir.

ANÁLISE QUANTITATIVA DE *PELLETS* NAS PRAIAS DO LITORAL PAULISTA E SEUS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS NÃO INGERIDOS EM AMBIENTES MARINHOS

1. INTRODUÇÃO

Plásticos representam mais de 90% do lixo marinho mundial (Milijö, 2001). Sendo assim, os *pellets*, como matéria-prima dos plásticos, ganham uma grande importância quando se trata de transporte destes materiais, em especial de sua matéria-prima. Segundo Ogata *et al.* (2009), a produção mundial de plástico aumenta 8% por ano e, consequentemente, o desperdício de *pellets*, os colocando em uma posição de poluente onipresente nos oceanos. Para dimensionar o tamanho da importância dos *pellets* em termos mundiais, em 2013 foram produzidas cerca de 250 milhões de toneladas de resinas termoplásticas (*pellets*), tendo a China e Europa como os principais produtores, com 62 e 50 milhões respectivamente (Abiplast, 2014), seguindo em um aumento de produção ano a ano (Ogata *et al.*, 2009). Estima-se que cada navio carregue uma média de 1 bilhão de *pellets* (Hammer *et al.*, 2012), e com o transporte deste material sendo majoritariamente marítimo, estes números causam preocupação. Por suas características de durabilidade e baixas densidades, os *pellets* podem ser encontrados em todos os oceanos do mundo (Mato, *et al.*, 2001), inclusive em regiões costeiras, onde são comumente encontrados encalhados em praias. Em 1992, seis sacos com 25kg de *pellets* foram encontrados intactos em praias dos Emirados Árabes Unidos, evidenciando a importância de estudos e medidas mitigatórias para este impacto ambiental da perda de *pellets* durante o processo de transporte (Khordagui & Abu-Hilal, 1994).

A distribuição de *pellets* nas regiões costeiras está intimamente ligada com suas fontes emissoras, normalmente localizadas em terra (Gregory 1999), como zonas portuárias e zonas industriais. Com isso, a distância destas fontes se apresenta como um fator importante a ser considerado na avaliação e monitoramento dos impactos deste lixo marinho no ambiente costeiro, principalmente em praias, visto que inúmeros trabalhos apontam para tal relação (Khordagui and Abu-Hilal, 1994; Gregory, 1978; Colton, 1974; Roos *et al.*, 1991; Shiber, 1979, 1982; Moore *et al.*, 2001; Claessens *et al.*, 2011), porém esta relação nunca foi efetivamente testada.

Quando se trata de distribuição de *pellets* em praias a literatura é bem controversa, sem uniformidade de local de maior acumulação e unidades (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012), e sem a possibilidade de comparação entre os resultados (Derraik, 2002). Turra *et al.* (2014) propõe que os dados de densidades de *pellets* sejam apresentados em m³. Já a área de maior acumulação ainda é um ponto de inconsistência da literatura, uma vez que esta varia em cada tipo de praia. Enquanto alguns estudos avaliam a praia inteira (transectos perpendiculares a linha de costa), outros amostram nas diferentes zonas praias (linha de deixa e supralitoral) (Van Cauwenberghe *et al.*, 2015). No levantamento de Hidalgo-Ruz *et al.* (2012) dos métodos utilizados para se amostrar microplásticos,

em 44 estudos, 14% das praias foram amostradas no supralitoral, 74% das praias foram amostradas nas diferentes alturas da linha de deixa, 4% no infralitoral, e 8% não especificaram o local da amostragem. Tais diferenças na uniformidade das amostragens dificulta a compreensão sobre a distribuição de *pellets* e microplásticos flutuantes em praias. Apesar da maioria dos estudos da literatura serem realizados nas linhas de deixa, estudos mais recentes sobre a distribuição de *pellets* e microplásticos em praias sugerem amostragens no supralitoral, próximo ao limite máximo do pós praia, por ser a zona praial que melhor representa os *stand stocks* de acumulação destes materiais (Turra *et al.*, 2014; Heo *et al.*, 2013). Com isso, estudos neste sentido são importantes para melhor descrever a situação da distribuição de *pellets* nas regiões costeiras, principalmente o acúmulo em praias, por se tratarem de áreas amplamente utilizadas para recreação e lazer, e também com importância ecológica.

O desperdício de *pellets* não significa apenas um prejuízo econômico, mas, principalmente, apresenta-se como sérias ameaças para a biota do ecossistema marinho (Pianowski, 1997; Pruter, 1987; Shiber & Barrales-Rienda, 1991; Milijö, 2001; Laist, 1987; Hammer *et al.*, 2012) e outros impactos os quais ainda não compreendemos muito claramente, como a velocidade de degradação destes materiais e a capacidade de adsorção de contaminantes nocivos à saúde humana (Pereira *et al.*, 2011), bem como a toxicidade destes poluentes para organismos marinhos. Tendo os *pellets* como vetores de contaminantes químicos para a fauna marinha, torna-se necessário avaliar os níveis desta ameaça, tanto para o organismos em contato direto com *pellets*, quanto para a sua prole e os efeitos deste contato em um contexto ecológico. Estudos realizados com a ingestão de *pellets* por animais marinhos já trazem importantes informações sobre os impactos diretos destes contaminantes para a fauna marinha, no entanto, pouco se sabe sobre a simples exposição destes contaminantes para os organismos marinhos, sem a ingestão.

De acordo com Perina (2009), em ambientes marinhos contaminados, mesmo sem ocorrer a ingestão, há uma exposição dos organismos a níveis subletais de agentes tóxicos. Este tipo de exposição, pode causar uma série de distúrbios bioquímicos e fisiológicos, mesmo não sendo tão intenso ao ponto de levar o organismo à morte. Por isso, a importância da utilização de ensaios de toxicidade para melhor avaliar esses efeitos ecotoxicológicos nos organismos expostos pelas diferentes vias. *Pellets* já vêm sendo testados desta forma, contudo, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas nesta temática. Em um estudo realizado com embriões de *Lytechinus variegatus* em exposição não ingerida de *pellets* virgens e *pellets* de praia, foi encontrada toxicidade crônica para os organismos testados, e maior toxicidade para *pellets* virgens (Nobre *et al.*, 2015). Outros estudos também contribuem neste sentido, como o Li *et al.* (2015) que testou a inibição do assentamento de larvas de *Amphibalanus amphitrite* na presença de plástico, e o de Bejgarn *et al.* (2015) que testou a toxicidade aguda de diferentes tipos de compostos plásticos para

Nitocra spinipes. Farrel & Nelson (2013) trazem o ineditismo da transferência trófica de microesférulas plásticas. No entanto, mesmo com alguns trabalhos já se atentando para as potencialidades tóxicas da exposição sem ingestão de plásticos para organismos marinhos, ainda são escassos os dados sobre toxicologia destes materiais, especialmente os *pellets*, limitando uma avaliação mais detalhada de riscos e impactos ambientais destes detritos plásticos no ambiente costeiro (Li *et al.*; 2015).

A coloração dos *pellets* também desperta uma atenção especial, quando se trata de toxicidade dos mesmo, por terem uma relação direta com a concentração de contaminantes adsorvidos nos *pellets* (Endo *et al.*, 2005). *Pellets* virgens, podem apresentar toxicidade maior por conta de sua carga de aditivos de fábrica (Nobre *et al.*, 2015). O local de coleta pode ser considerado um fator de influência, se considerarmos os resultados de Endo *et al.* (2005) e Ogata *et al.* (2009), e a sugestão de Endo *et al.* (2005) de que a carga de contaminantes dos *pellets* pode representar a contaminação local, tal relação também pode ser encontrada na toxicidade dos mesmo.

Mesmo não figurando entre os principais produtores mundiais de plástico, o Brasil possui o maior porto da América Latina, responsável por 28% (634 mil toneladas por ano) do total de *pellets* transportados pelos portos brasileiros, e um importante emissor de *pellets* para a região costeira em que está localizado. Tal fato traz para região a preocupação e a necessidade de informações sobre as densidades de *pellets* em suas praias, e possibilita que esta seja utilizada em pesquisas que contribuam para o assunto. Seguindo esta ideia, este presente estudo tem como objetivo verificar a existência de um gradiente na densidade de *pellets* nas praias em diferentes distâncias de uma fonte emissora de *pellets*, utilizando o Porto de Santos como fonte emissora deste material para a região costeira São Paulo e como região modelo para esta pergunta. Espera-se um gradiente decrescente na densidade de *pellets* nas praias à medida em que se aumenta a distância da fonte emissora, o Porto de Santos. Também foi verificada a diferença desta densidade entre as diferentes direções do Porto de Santos das praias amostradas (Norte e Sul), uma vez que as correntes costeiras predominantes na região rumam para o Sul.

Quanto as lacunas dos impactos que os *pellets* podem conferir ao meio ambiente e aos organismos marinhos, este trabalho se propôs a analisar a capacidade dos *pellets* de contaminar água e sedimento, conferindo toxicidade para organismos marinhos em exposição direta, não ingerida. Em um primeiro momento, foi testada a capacidade de *pellets* de conferir toxicidade para duas espécies costeiras (*Lytechinus variegatus* e *Nitokra* sp.), utilizadas como modelo, e expostas a uma grande densidade de *pellets*. E a influência do local de coleta e a coloração dos *pellets* para a toxicidade, uma vez que espera-se que *pellets* brancos representem os *pellets* mais novos no ambiente, apresentando maior toxicidade por possuírem maior concentrações de aditivos industriais instáveis e

muito voláteis. Espera-se também que a toxicidade dos *pellets* reflita a toxicidade da região que foram coletados.

Por fim, integrando as densidades encontradas no litoral de São Paulo com a toxicidade, objetivamos verificar a toxicidade de exposição das densidades de *pellets* encontradas nas praias neste presente trabalho e já descritas na literatura para organismos marinhos, utilizando *Tiburonella viscana* como modelo, tentando identificar a densidade de *pellets* tóxica para estes organismos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Análise de pellets no litoral de São Paulo*

2.1.1. *Qual a zona praial mais adequada para amostrar densidade de pellets?*

Para avaliar a distribuição dos *pellets* na faixa de areia da praia foram escolhidas três praias com padrões similares em termos de exposição (abrigadas), extensão (menores que 300 m de extensão) e impactos antrópicos (praias de difícil acesso, sem atividade de limpeza e/ou retirada de areia). As praias escolhidas para esta etapa se encontram na região da Baixada Santista, no Litoral de São Paulo, nas proximidades do Porto de Santos, sendo que a praia de Itaquitanduva e a praia do Góes se localizam dentro da Baía de Santos (menos de 10km do porto) e a Praia Preta, um pouco mais afastada (20km do porto), no Guarujá, próximo ao canal de Bertioga.

Em cada praia, optou-se por testar as duas diferentes alturas da faixa de areia amplamente utilizadas para amostrar *pellets* na literatura, e a profundidade até 25 cm, por se tratar da faixa de areia de maior contato com a água do mar, sendo mais significativa para a relação com a ecotoxicidade para os organismos marinhos testados. Com isso, em cada praia foram amostrados *pellets* em duas diferentes alturas da faixa de areia: **Linha de Deixa** - representando *pellets* recentes acumulados na praia e com maior influência da ação de ondas e marés, e **Limite Máximo Superior do Supra Litoral** - representando os *stand stocks* de acumulação de *pellets* nas praias com menor influência da ação de ondas e marés, sendo afetada por tal influência apenas em eventos extremos de empilhamento de água na costa. E em três diferentes faixas de profundidades (**Superfície** [5 cm], **Coluna** [10 cm-20 cm], e **Profundidade** [25 cm]). A Linha de Deixa foi definida como a linha mais alta de acúmulo de materiais (naturais ou antrópicos) em direção ao Supra Litoral, e o Limite Máximo Superior do Supra Litoral foi definido como o final da faixa de areia, próximo à restinga ou construções antrópicas (calçadões, muros ou casas). Em cada altura da faixa de areia e profundidade foram realizadas 5 réplicas na porção central de cada praia, utilizando um *corer* de 7,5 cm de raio. O sedimento retirado foi separado por profundidade e translocado para um balde com água do mar para a separação dos *pellets* por diferença de densidade e, posteriormente peneirados com uma malha de 1 mm.

O total de *pellets* foi contabilizado (em *pellets/corer*) por altura na faixa de areia e por profundidade e os dados foram analisados em uma ANOVA-ortogonal com 3 fatores: Praia (Fator 1, aleatório, ortogonal, 3 níveis), Área (Fator 2, fixo, ortogonal, 2 níveis) e Profundidade (Fator 3, fixo, ortogonal, 3 níveis).

2.1.2. *Existe um gradiente de densidade de pellets em praias relacionado com a distância portuária?*

A área amostral se estende pelo litoral de São Paulo, do município de Ilha Comprida até Ubatuba, contemplando 8 cidades (Ilha Comprida, Peruíbe, Itanhaém, Praia Grande, Santos,

Guarujá, São Sebastião e Ubatuba) ao longo de cerca de 350 km de costa. Para o teste da hipótese de gradiente de densidade de *pellets*, foram selecionadas 12 praias em diferentes distâncias do Porto de Santos (<5 km, 10 km, 55 km, 90 km, 140 km e 170 km), para sul e para norte. As praias foram selecionadas por suas características morfológicas, seguindo o protocolo proposto pela *United Nations Environment Programme* (UNEP) (Cheshire *et al.*, 2009), com praias com pouca inclinação (entre 15° e 45°), larguras entre 100 m e 1 km, acessos livres para o mar e sem bloqueios de quaisquer estruturas antropogênicas. Exceto para as duas últimas praias do sudoeste que se localizam em um região do litoral com praias extensas, sem muitos recortes geográficos, no qual prevaleceu a distância portuária para a escolha da praia (Figura 1).

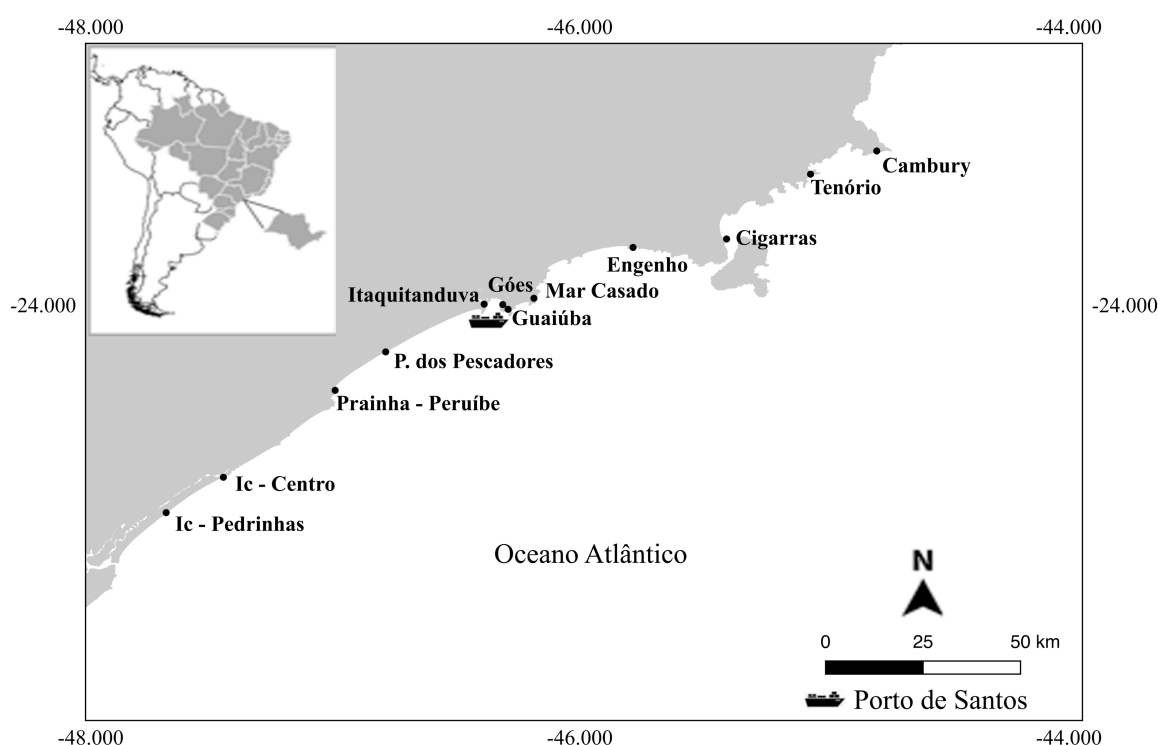


Figura 1. Litoral de São Paulo com as 12 praias selecionadas para a amostragem de *pellets* e o Porto de Santos, para a determinação da relação entre densidade de *pellets* e distância portuária.

Em cada praia, foi realizada uma amostragem de *pellets* na superfície (5 cm) da faixa de areia do Limite Superior do Supra Litoral, utilizando um *corer* de 7,5 cm e um *n* amostral de 20 réplicas na porção central de cada praia. Os *pellets* coletados foram separados do sedimento por diferença de densidade, seguindo o método de flotação (Manzano, 2009), e contabilizados no próprio local de coleta. A coloração dos *pellets* foi definida visualmente entre as tonalidades encontradas (brancos e transparentes, amarelos, alaranjados, marrons e pretos pigmentados). Para uma uniformidade de unidades comparáveis com a literatura, o total de *pellets* de cada praia foi transformado para m³ seguindo a metodologia proposta por Turra *et al.* (2014). O total de *pellets* foi contabilizado e a média de cada praia foi relacionada com a distância do Porto de Santos (em km) em uma Regressão

Linear. Os dados de ambos os eixos foram ajustados em uma transformação Log10 (X +1) para se obter o ajuste linear.

Para identificar diferenças na densidade de *pellets* de acordo com a direção em que a praia está localizado do Porto de Santos (Norte, Sul ou Centro - região portuária), foi realizada uma ANOVA multifatorial de dois fatores com Região (Fator 1, fixo, 3 níveis [Sul, Centro, Norte]) e Praias (Fator 2, aleatório, aninhado, 4 níveis).

2.2. Efeitos ecotoxicológicos de pellets não ingeridos em ambientes marinhos

Para testar a toxicidade não ingerida de *pellets*, optou-se por utilizar exposições de *pellets* em ensaios ecotoxicológicos com 3 diferentes espécies de organismos marinhos (*Lytechinus variegatus* - organismo marinho; *Nitokra* sp. - organismos estuarino; e *Tiburonella viscana* - organismos bentônico) para testar a replicabilidade dos resultados. Os organismos foram escolhidos pela facilidade de cultivo e manipulação em laboratório e obtenção dos mesmos no ambiente natural, e por se tratarem de organismos com diferentes habitats no ambiente costeiro. Além de serem organismos amplamente utilizados em testes de ecotoxicidade com protocolos bem definidos, o que facilita a adequação destes protocolos para a sua utilização com *pellets*, já que ainda não é possível de encontrar protocolos ecotoxicológicos para testes com *pellets*.

As exposições de *pellets* foram realizadas em duas etapas: uma utilizando dois organismos como modelo para testar o efeito da exposição de *pellets* em grandes quantidades, e a segunda com um organismos como modelo para testar a toxicidade das densidades encontradas nas praias do litoral de São Paulo. O primeiro modelo, utilizando *L. variegatus* e *Nitokra* sp., testou os efeitos ecotoxicológicos de uma exposição de *pellets* em grande quantidade, o tipo de efeito (agudo e/ou crônico) e as possíveis influências de outros fatores na toxicidade dos *pellets* (coloração e local de coleta). Na segunda etapa, o organismo utilizado foi a *T. viscana* e a exposição seguiu as densidades de *pellets* encontradas nas praias amostradas neste trabalho e as densidades máximas já encontradas na literatura, com o objetivo de testar a toxicidade das quantidades encontradas no ambiente costeiro para os organismos marinhos.

Foram coletados *pellets* de duas áreas com diferentes níveis de contaminação e toxicidade de água e sedimento para organismos marinhos, sendo uma área historicamente contaminada e outra referência para testes de toxicidade. Uma das áreas escolhidas foi a Baía de Santos, área com alta toxicidade para organismos marinhos, tanto na coluna d'água (Moreira & Abessa, 2014; Sousa *et al.*, 2014), quanto para sedimentos (Sousa *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2013, Maranhão *et al.*, 2008), e com histórico de contaminação (Azevedo & Braga, 2011) devido as diversas atividades antrópicas, como por exemplo as constantes atividades portuárias de dragagem (Davanso, 2006; Fenili, 2012) e a proximidade do pólo petroquímico de Cubatão (Fisner *et al.*, 2013, Hortellani, 2008). E a outra área foi a região do município de Bertioga, está mais afastada das fontes de contaminação, e é utilizada

como controle para ensaios ecotoxicológicos para sedimentos (Ferraz, 2013). Esta área também está próxima da Unidade de Conservação Parque Estadual Restinga de Bertioxa, estando esta sob condição de conservação e apresenta mínimos impactos antrópicos (Passarelli, 2013). As regiões foram selecionadas pela facilidade na obtenção de *pellets* na quantidade necessária para a realização dos testes ecotoxicológicos. Foram realizadas duas coletas de *pellets* em duas praias de cada região, em Junho e Setembro de 2015. Os *pellets* foram coletados de forma aleatória, com uma busca ativa e coleta manual na zona de deixa e armazenados em ambiente controlado em 5-10°C.

2.2.1. Pellets são capazes de conferir toxicidade para organismos marinhos em exposição não-ingrida?

Nesta primeira etapa da parte ecotoxicológica foram realizadas duas exposições para dois organismos diferentes (*L. variegatus* e *Nitokra* sp.). Para cada exposição, os *pellets* coletados foram separados por praia e por coloração (brancos e amarelados), e expostos em diferentes tratamentos para os organismos testados, com 4 réplicas para cada tratamento e um tratamento controle (sem *pellets*).

Para *L. variegatus*, os *pellets* foram dispostos de forma direta na coluna d'água, na parte inferior do ensaio, separados por uma malha 0,5 mm, na proporção de 1/4 (Figura 2). A malha foi esterilizada com água destilada, álcool 70% e autoclavada e foi realizado um teste controle para rede, para verificar possíveis interferências de sua presença no teste.

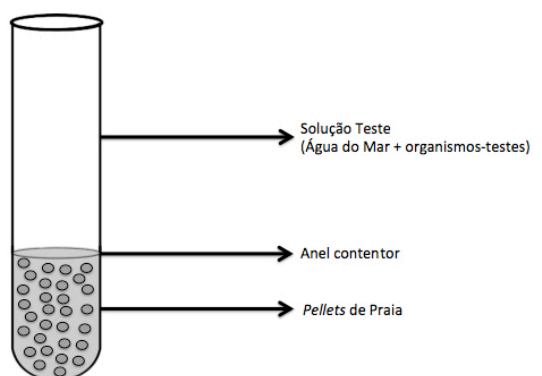


Figura 2. Esquema da disposição dos *pellets* nos ensaios ecotoxicológicos.

Para a exposição com *Nitokra* sp., esta foi realizada com os *pellets* dispostos na coluna d'água sem a separação por malha contidora em contato direto com os organismos testados, para testar outro tipo de exposição dos *pellets* aos organismos, uma vez que este teste permite que seja realizada tal exposição.

2.2.1.1 Ensaio embriolarval com *Lytechinus variegatus* (Echinodermata, Echinoidea)

Os testes de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus* seguiram os protocolos de ensaio descritos pela USEPA (1991) e pela ABNT/NBR 15350/2012. O método

consiste na exposição de embriões de ouriço-do-mar durante 24 a 28 horas às amostras de *pellets* de plástico e posterior análise do desenvolvimento embriolarval.

Os experimentos foram conduzidos em tubos de ensaio contendo 10 mL de solução-teste (8 mL de água + 2 mL de *pellets*). Os 2 mL de *pellets* foram medidos com a utilização de uma seringa e depois transferidos para o tubo de ensaio, sendo necessários aproximadamente 40 *pellets* para a obtenção do volume desejado. Para cada ensaio foram realizados 4 réplicas de cada praia e de cada coloração, contendo cerca de 300 ovos por réplica, e o conjunto mantido em câmara incubadora com temperatura constante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h/12h durante o teste. Posteriormente, os 100 primeiros embriões de cada réplica foram analisados quanto ao seu desenvolvimento sob microscópio com auxílio de uma câmara de *Sedgewick-Rafter*. Embriões que atingiram o estágio de larva Pluteus bem desenvolvido foram considerados normais, enquanto aqueles apresentando alterações morfológicas e/ou retardo foram considerados afetados (Figura 3).

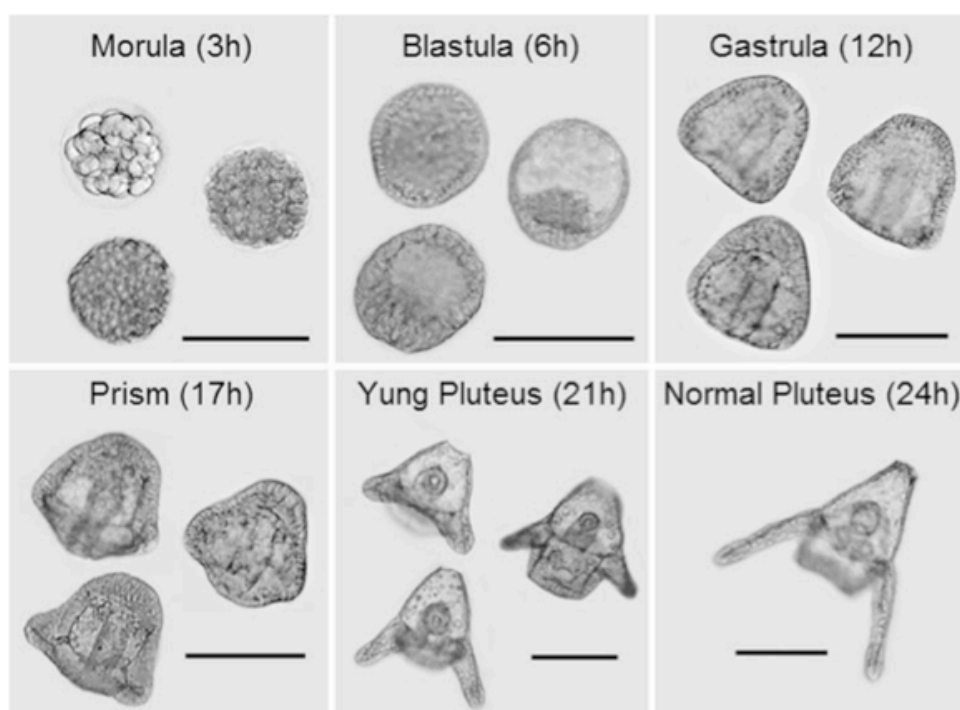


Figure 3. Desenvolvimento embriolarval de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*) retirado do trabalho de Perina *et al.* (2011). Barras pretas representam 200 µm.

A técnica de indução de liberação dos gametas utilizada neste ensaio seguiu o método descrito na norma técnica ABNT/NBR 15350 (2012), com uma proporção espermatozoide/óvulo que proporcione uma taxa adequada de fertilização (superior a 90 %) no controle do ensaio. Para isso, após a liberação dos gametas, empregou-se os procedimentos descritos no protocolo USEPA (1991).

2.2.1.2 Ensaio de toxicidade crônica com *Nitokra* sp.

Os testes de toxicidade com *Nitokra* sp. foram baseados na metodologia descrita por Lotufo e Abessa (2002). Os ensaios foram conduzidos em tubos de ensaio contendo 10 mL de solução-teste

(8mL de água + 2mL de *pellets*), sendo necessários aproximadamente 40 *pellets* para a obtenção do volume desejado, medidos em uma seringa e depois transferidos para o tubo de ensaio, assim como no teste anterior. Para cada ensaio foram realizados 4 réplicas de cada praia e de cada coloração e, com o auxílio de uma lupa, 5 fêmeas ovadas foram triadas (distinguindo-as a partir dos ovos na região abdominal) e transferidas para cada recipiente teste. Após a adição dos organismos, os testes foram alimentados com 100 µL de ração de peixe fermentada e transferidos para uma câmara incubadora, com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h/12h, por um período de 10 dias de exposição. Após o término do teste, a cada réplica foi adicionado uma mistura de formaldeído 10% com corante rosa de Bengala para fixação e coloração dos organismos. Após este procedimento, os organismos foram analisados com auxílio de uma lupa e classificados como náuplios, copepoditos e fêmeas. Os resultados dos ensaios foram avaliados através do número de náuplios e copepoditos relativo ao número de fêmeas colocadas inicialmente:

$$\text{Taxa de eclosão} = (n_{\text{copepoditos}} + n_{\text{náuplios}}) \times 5^{-1}$$

Também foi analisada o efeito agudo dos *pellets* para as fêmeas adultas de cada tratamento, por meio da sobrevivência das fêmeas após o período de exposição.

2.2.2. Em qual densidade de exposição a presença do pellet se torna tóxica para organismos marinhos?

Para esta segunda etapa da parte ecotoxicológica foram realizados três testes com *Tiburonella viscana* para testar a toxicidade aguda dos *pellets* em diferentes densidades. As exposições de *pellets* foram realizada de acordo com as densidades máximas encontradas na literatura, e contemplando também as densidades encontradas no gradiente do Litoral Paulista.

O primeiro teste foi realizado com as densidades encontradas nas praias do Litoral de São Paulo, com exceção de Itaquitanduva que foi considerada uma densidade fora do normal, muito acima das densidades encontradas na região (1, 2, 5 e 10 *pellets*/100g).

A partir dos resultados obtidos neste primeiro teste, as densidades foram aumentadas, contemplando a densidade de Itaquitanduva e a maior densidade já encontrada na literatura (McDermid & McMullen, 2004), além da densidade que apresentou efeito agudo no 1o teste, e a densidade mais comum encontrada nas praias da Baixada Santista (2, 10, 60 e 120 *pellets*/100g). Uma réplica do teste com as densidades aumentadas foi realizada para comprovar os padrões obtidos no primeiro teste com estas mesmas densidades.

Para a determinar as densidades de *pellets* utilizadas para os testes com *T. viscana*, os dados de densidades obtidos foram convertidos para m^3 seguindo a extrapolação proposta por Turra *et al.* (2014). Após realizada esta conversão par m^3 , o resultado foi dividido por 10^4 , para se determinar a quantidade de *pellets* para serem utilizados na contaminação de 100ml de sedimento. Nos três testes

realizados foi utilizado o sedimento referência da Praia do Engenho d'água, Ilha Bela, para a contaminação com as diferentes densidades de *pellets* testadas, pelo método de *spiking* (Simpson *et al.*, 2004). Os *pellets* da segunda coleta (Setembro/2015) foram misturados e selecionados para cada densidade, independente de coloração e/ou praia. Para densidade, os *pellets* foram colocados no sedimento referência e homogeneizados por 15 minutos e depois armazenados em frascos de vidro e refrigerados em 5-10°C por 5 dias. O sedimento contaminado de cada densidade foi utilizado para os testes com *Tiburonella viscana*.

Os testes de toxicidade aguda com *Tiburonella viscana* seguiram a metodologia desenvolvida por Melo & Abessa (2002), preconizado pela ABNT (2008). Os ensaios foram realizados em frascos de vidro com 100g de sedimento de cada tratamento (densidade) e o restante de água do mar. Foram realizadas quatro réplicas por densidade, com 10 indivíduos adultos e sadios, de tamanhos semelhantes e sem anomalias morfológicas. Após os 10 dias de duração do teste foi verificado a taxa de mortalidade dos organismos, sendo que os organismos ausentes foram considerados mortos (Melo & Abessa, 2002).

2.2.3. Análise estatística dos testes de ecotoxicidade.

Para os ensaios com *L. variegatus* e *Nitokra* sp., os dados foram analisados em duas etapas. A primeira com uma ANOVA-1 fator, para testar a existência de toxicidade, verificando as diferenças entre os tratamentos e os respectivos controles. Na etapa seguinte, os dados as análises foram realizadas com uma ANOVA-multifatorial (dois fatores - Cores [Fator 1, fixo, ortogonal, 2 níveis] e Praia [Fator 2, fixo, ortogonal, 4 níveis]) para ambos os organismos, excluindo os controles e analisando apenas os tratamentos e a influência dos demais fatores na toxicidade.

Os ensaios de *Tiburonella viscana* foram analisados com uma ANOVA-1 fator: Tratamentos (Fator 1, fixo, 5 níveis) para as primeiras densidades, e uma ANOVA-multifatorial (dois fatores - Tempo [Fator 1, aleatório, ortogonal, 2 níveis] e Tratamentos [Fator 2, ortogonal, fixo, 5 níveis]) para os ensaios replicados com densidades maiores. Para todas as análises do presente trabalho, as diferenças foram consideradas significativas quando os valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Foram coletados um total de 13.138 *pellets* em quatro diferentes coletas ao longo do ano de 2015. A coloração mais encontrada nos *pellets* coletados foi a Branca, representando cerca de 50% dos *pellets* coletados, seguida pelas colorações Amarelas que foram agrupadas representando cerca de 30% do total coletado e Laranja (10%). As demais colorações restantes (marrom, preto e cores pigmentadas) foram pouco encontradas totalizando somadas 10% do total coletado.

3.1 Análise quantitativa de *pellets* no litoral de São Paulo

Observou-se uma diferente distribuição de *pellets* nas profundidades testadas, independente da praia e da altura na faixa de areia (Tabela 1). No entanto, mesmo não significativo ($p = 0,053$), a interação entre a profundidade e a altura na faixa de areia sugere uma tendência de existir uma maior diferença de densidade de *pellets* nas profundidades da Linha de Deixa do que no Supra Litoral, onde a densidade de *pellets* é mais homogênea entre as profundidades (Figura 4).

Tabela 1. ANOVA três fatores comparando a densidade de *pellets* sob a influência dos fatores Praia (Fator 1, aleatório, ortogonal, 3 níveis), Área (alturas da faixa de areia - Fator 2, fixo, ortogonal, 2 níveis) e Profundidade (Fator 3, fixo, ortogonal, 3 níveis). Números em negrito representam valores significativos de p .

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	p
Praia	2	25,14	52,63	0,156
Área	1	4,56	11,74	0,075
Profundidade	2	11,56	16,07	0,012
Praia x Profundidade	4	0,71	1,14	0,450
Praia x Área	2	0,38	0,61	0,584
Área x Profundidade	2	4,17	6,61	0,053
Praia x Área x Profundidade	4	0,63	1,81	0,135
Resíduo	72	0,34		

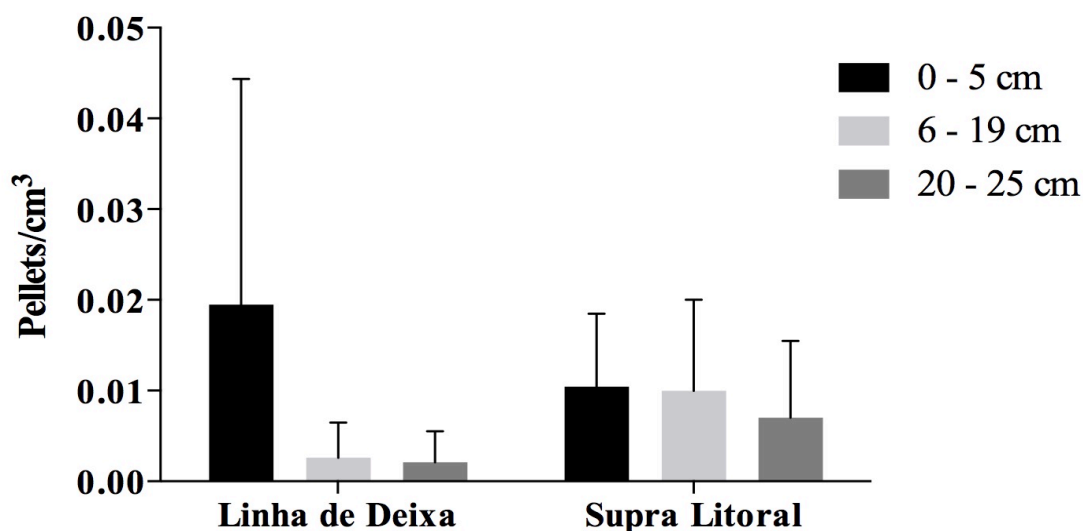


Figura 4. Determinação distribuição de *pellets* em praias. Comparação entre a Linha de Deixa mais alta encontrada na praia e o Limite Superior do Supra Litoral em 3 diferentes faixas de profundidade. Os dados das 3 praias amostradas foram integrados pela não interferência do fator Praia na dispersão dos *pellets* em praias do ambiente costeiro. O *corer* utilizado possui raio de 7,5 cm.

Foi possível perceber uma tendência de decréscimo da densidade de *pellets* nas praias do litoral de São Paulo inversa a distância da praia ao Porto de Santos ($R^2 = 0,4369$, $p < 0,05$, $y = 4,3702 - 1,0804x$), independente da direção da costa (Norte ou Sul) (Figura 5). As praias localizadas dentro da Baía de Santos, sob forte influência portuária, apresentaram médias as maiores médias de densidade de *pellets*, seguidas pelas praias das proximidades do porto (10 km), fora da Baía de Santos. A praia de Itaquitanduva (10 km) apresentou uma média muito acima da maior média encontrada nas demais praias (Figura 6). As médias encontradas e a distância em linha reta de cada praia para o Porto de Santos podem ser encontrados na Tabela 2.

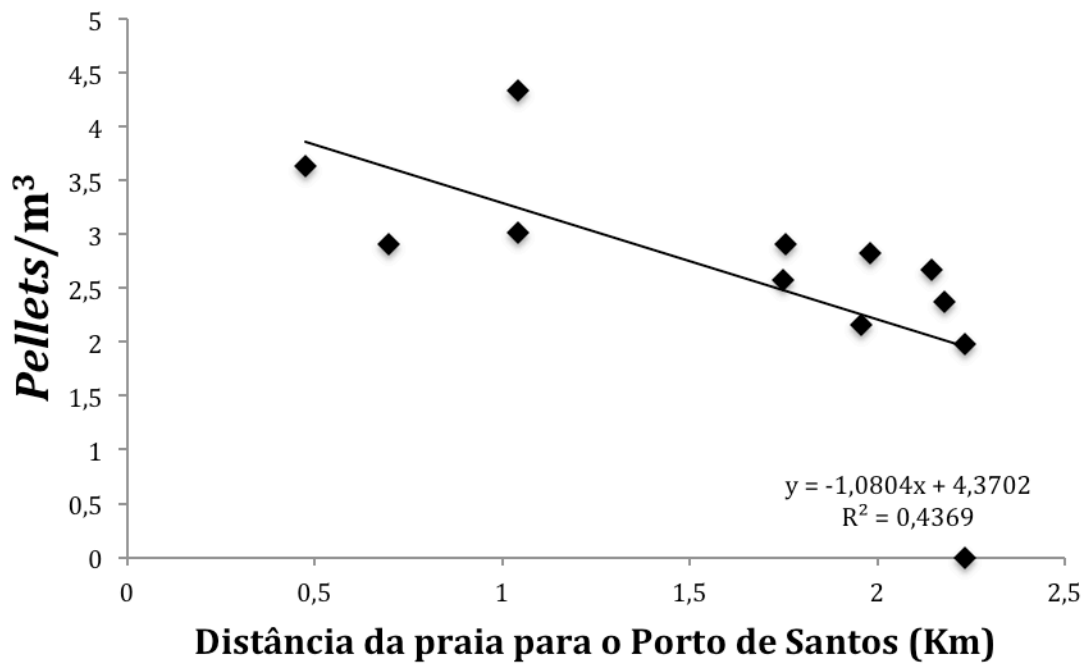


Figura 5. Gradiente de *pellets* em praias do litoral de São Paulo relacionados com a distância do Porto de Santos (Km). Doze praias foram amostradas em diferentes distância dos portos, para Sul e para Norte, e foi encontrado uma relação logarítmica (ajuste Log para regressão linear: ($R^2 = 0,4369$, $p < 0,05$, $y = 4,3702 - 1,0804x$) entre a densidade de *pellets* na faixa de areia das praias e a distância que a praia se encontra do Porto de Santos. Dados de densidade de *pellets* e distância portuária logaritimizados na base 10.

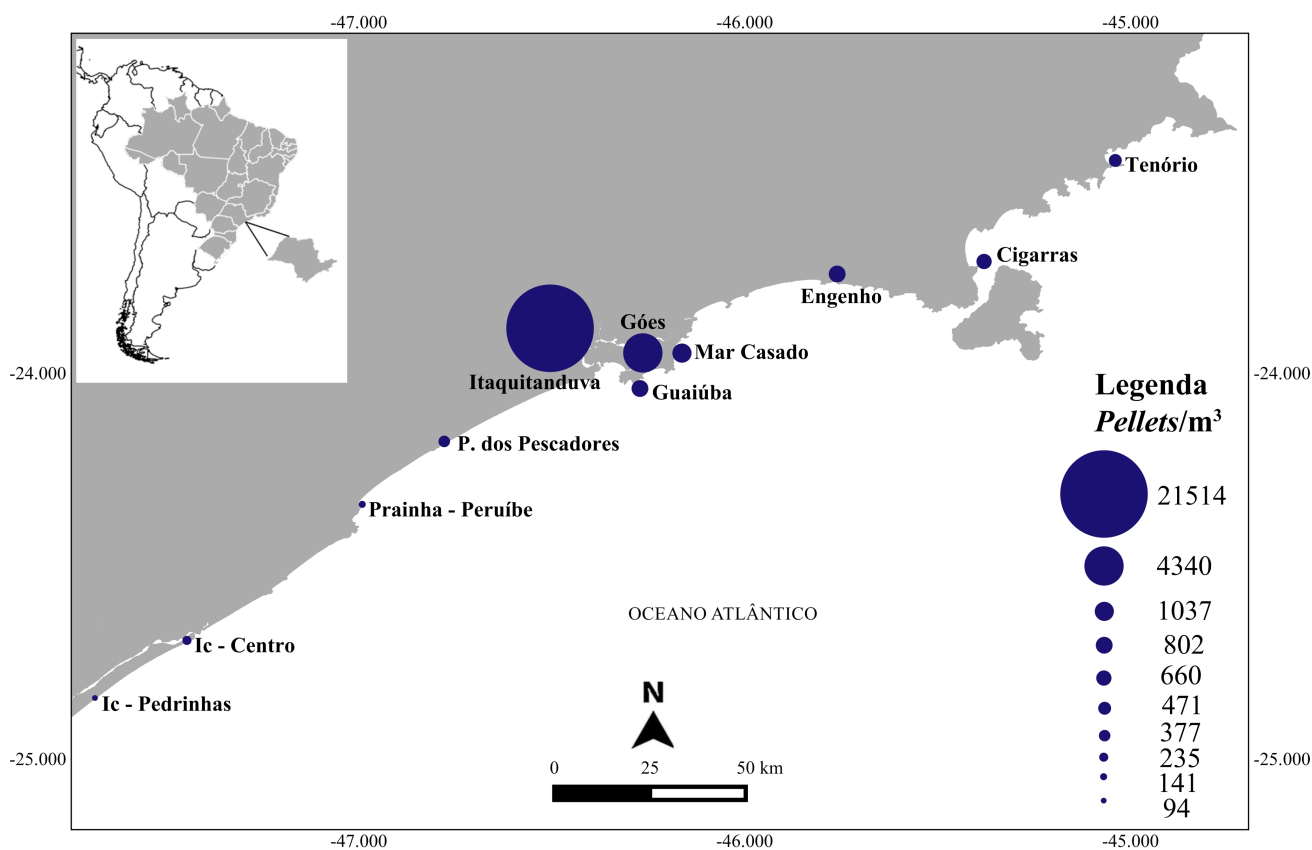


Figure 6. Mapa do litoral de São Paulo com as densidade de *pellets* encontrada para as praias amostradas no presente trabalho.

Tabela 2. Densidades de *pellets* encontradas nas praias do litoral de São Paulo de acordo com a distância (medida em linha reta) e direção da praia para o Porto de Santos.

Praia	Cidade	Direção do Porto de Santos	Distância do Porto de Santos (km)	Densidade Média de <i>Pellets</i> (m ³)
Góes	Guarujá	Sul	2	4340,64
Guaiúba	Guarujá	Norte	4	802,07
Itaquitanduva	Praia Grande	Sul	10	21514,5
Mar Casado	Guarujá	Norte	10	1037,98
Praia dos Pescadores	Itanhaém	Sul	55	377,44
Engenho	São Sebastião	Norte	56	802,07
Prainha	Peruíbe	Sul	90	141,54
Cigarras	São Sebastião	Norte	95	660,53
Praia do Centro	Ilha Comprida	Sul	150	235,9

Tenório	Ubatuba	Norte	139	471,8
Pedrinhas	Ilha Comprida	Sul	171	94,36
Cambury	Ubatuba	Norte	170	0

Na comparação das densidades de *pellets* entre as direções em que as praias se localizam do Porto de Santos, não houve diferença significativa ($p=0,22$) entre as regiões Sul, Centro e Norte. Houve diferença apenas entre as praias ($p<0,001$) independente da direção, tendo as praias localizadas dentro da Baía de Santos diferentes das demais (post-hoc Tukey), com Itaquitanduva diferente de todas as outras, e Góes similar apenas as praias também do Guarujá (Guaiúba e Mar Casado) e da praia de São Sebastião mais próxima do Guarujá (Engenho).

3.2. Efeitos ecotoxicológicos de pellets não ingeridos em ambientes marinhos

No teste de toxicidade crônica com *L. variegatus*, houve diferença na porcentagem de larvas normais em alguns tratamentos testados (ANOVA - 1 fator, $F = 12,28$, $gl = 9$, $p<0,001$ - Tukey post-hoc, $p<0,05$), conferindo toxicidade para ambas as colorações na praia do Góes e Riviera, e para a coloração branca da praia de Itaguare (Figura 7).

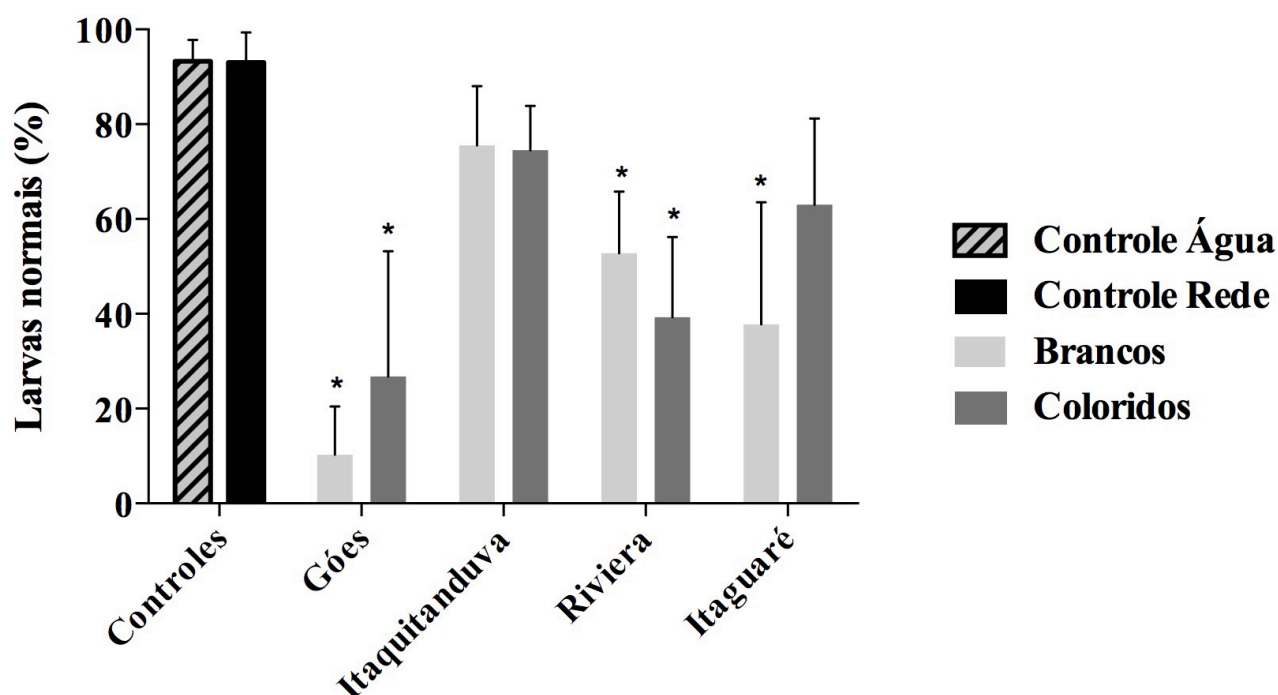


Figura 7. Porcentagem de larvas normais para o teste embriolarval de *L. variegatus*. Foram consideradas normais as larvas sem má formação e que atingiram o estágio de larva Pluteus. *Tratamentos que apresentaram toxicidade crônica para os organismos ($p<0,05$), quando comparados aos controles (ANOVA - 1 fator).

Na comparação entre os tratamentos, apenas o fator praia apresentou significância para a toxicidade para os organismos de *L. variegatus* (Tabela 3), com uma divisão clara em três grupos de toxicidade (Figura 8). Podemos observar uma alta toxicidade na praia do Góes e sem toxicidade na praia de Itaquitanduva, com as praias de Riviera e Itaguapé em um nível intermediária de toxicidade.

Tabela 3. ANOVA dois fatores comparando a toxicidade de *pellets* dos tratamentos (mortalidade de larvas de *L. variegatus*) sob a influência dos fatores Cores (Fator 1, fixo, ortogonal, 2 níveis) e Praia (Fator 2, aleatório, ortogonal, 4 níveis). Números em negrito representam valores significativos de p.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	p
Cores	1	371,28	1,18	0,287
Praia	3	4287,36	13,68	<0,001
Cores x Praia	3	604,95	1,93	0,151
Resíduo	24	313,24		

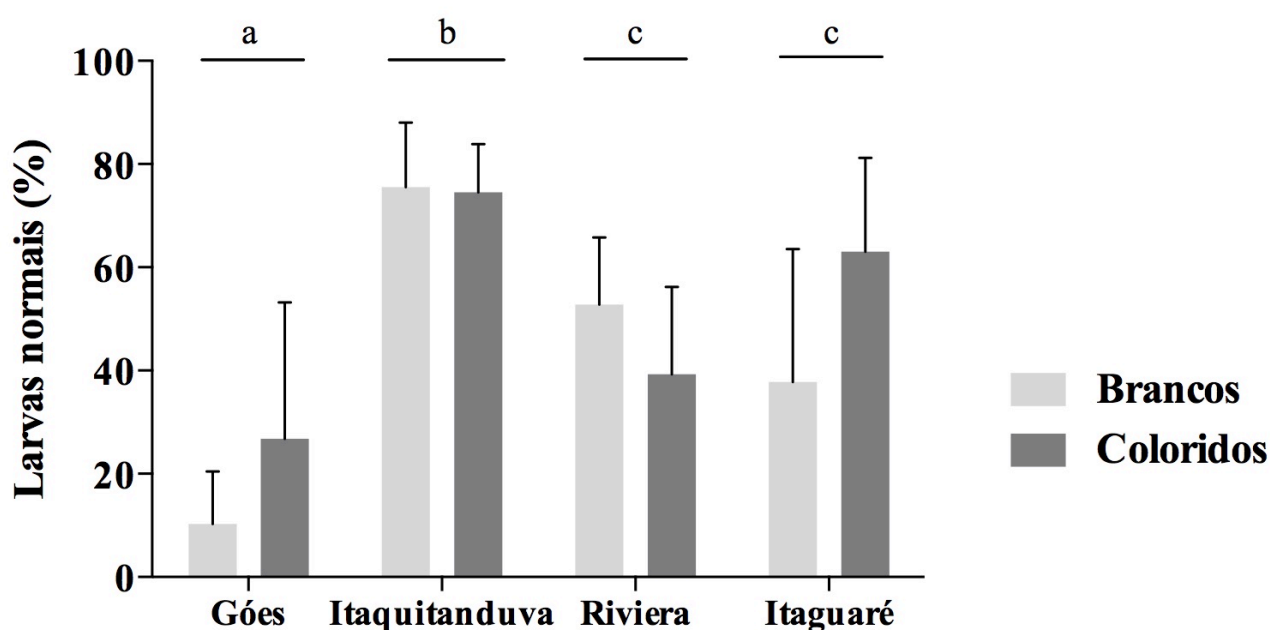


Figure 8. Porcentagem de larvas normais para o teste embriolarval de *L. variegatus*. Foram consideradas normais as larvas sem má formação e que atingiram o estágio de larva Pluteus. Letras diferentes indicam diferença significativa entre praias.

No ensaio com *Nitokra sp.*, apesar de ter ocorrido mortalidade de fêmeas em algumas réplicas de tratamentos no teste realizado, nenhum tratamento apresentou toxicidade aguda para os organismos adultos testados (ANOVA - 1 fator, $F = 1,48$, $gl = 8$, $p = 0,206$). Contudo, foi possível observar diferença na fecundidade das fêmeas para todos os tratamentos (ANOVA - 1 fator, $F = 15,89$, $gl = 8$, $p < 0,001$) apresentando toxicidade crônica dos *pellets* para todos os tratamentos testados (Tukey $p < 0,05$) (Figura 9).

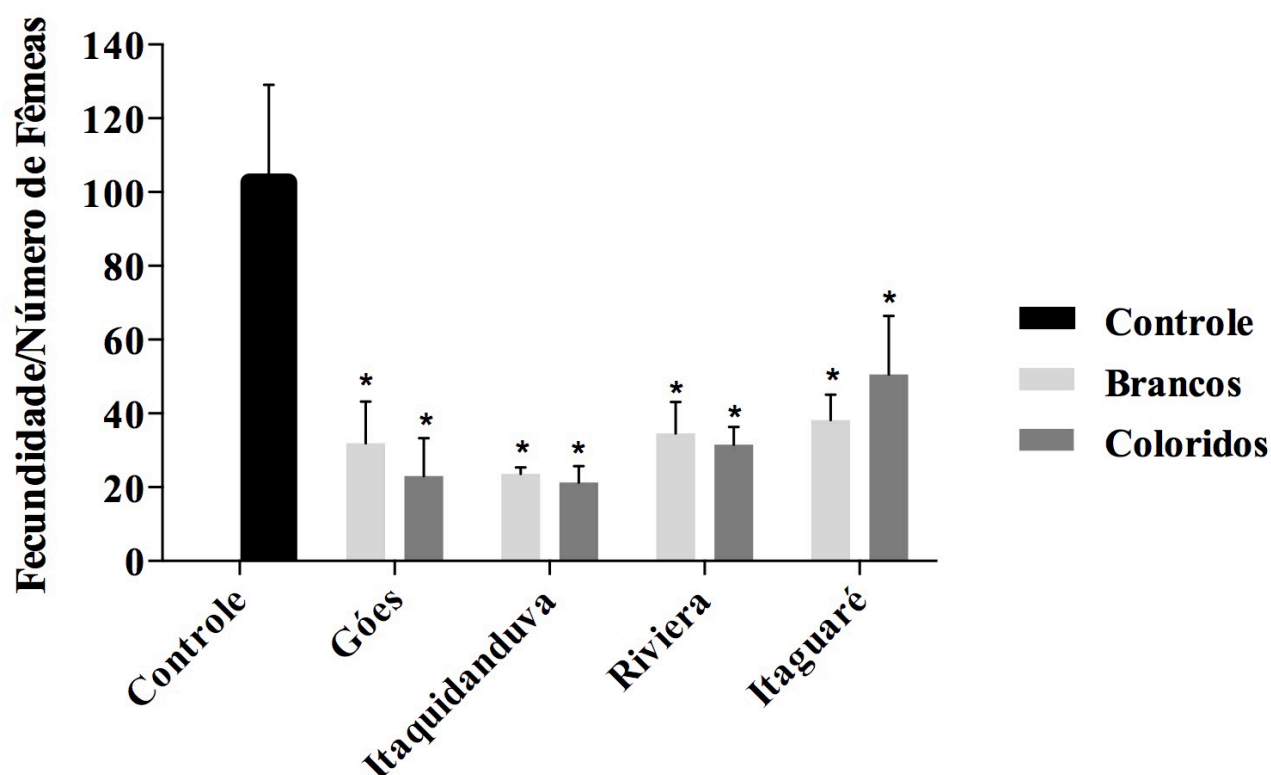


Figura 9. Toxicidade crônica de fertilidade de fêmeas de *Nitokra sp.* em diferentes tratamentos (praia e coloração dos *pellets*). *Tratamentos que apresentaram toxicidade crônica para os organismos ($p < 0,05$), quando comparados aos respectivos controles de exposição (ANOVA - 1 fator).

Houve uma variabilidade espacial na fertilidade de fêmeas de *Nitokra sp.*. Na comparação entre os tratamentos, o fator Praia apresentou significância ($p < 0,001$) para a fertilidade das fêmeas (Tabela 4), assim como no teste com *L. varigatus*, reforçando a existência de um padrão de variabilidade local da toxicidade de *pellets*, independente de cor de *pellet*. Apesar de todos os tratamentos se apresentarem com toxicidade crônica para os organismos de *Nitokra sp.*, o tratamento de *pellets* amarelo da praia de Itaguapé se apresentou com menor toxicidade crônica do que ambos os tratamento da praia de Itaquidanduva e que o tratamento amarelo da praia do Góes (Figura 10).

Tabela 4. ANOVA de dois fatores comparando a comparando a toxicidade de *pellets* dos tratamentos (fertilidade de fêmeas de *Nitokra sp.*) sob a influência dos fatores Cor (Fator 1, fixo, ortogonal, 2 níveis) e Praia (Fator 2, aleatório, ortogonal, 4 níveis). Números em negrito representam valores significativos de p.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	p
Cor	1	1,62	0,01	0,889
Praia	3	709,59	8,64	<0,001
Cores x Praia	3	163,86	1,99	0,141
Resíduo	24	82,05		

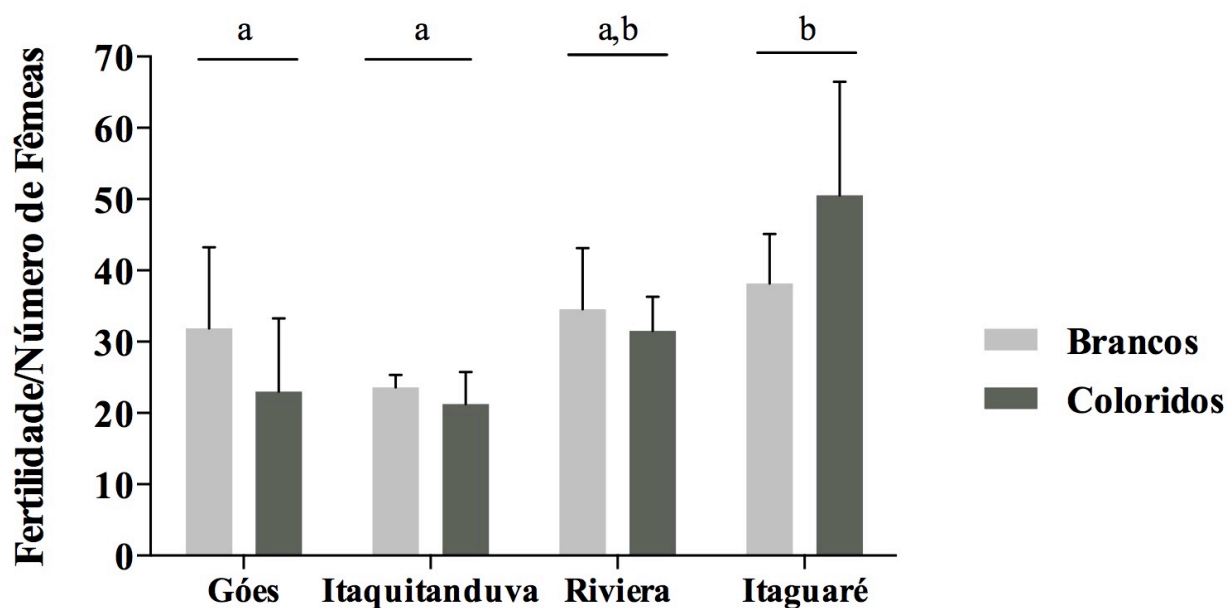


Figure 10. Toxicidade crônica de fertilidade de fêmeas de *Nitokra sp.* em diferentes tratamentos para dois fatores (praia e coloração dos *pellets*). Letras diferentes indicam diferença significativa entre praias.

Foi encontrada toxicidade aguda de *pellets* na densidade de 10 *pellets*/100g de sedimento para *T. viscana* no primeiro teste (ANOVA - 1 fator, $F = 3,61$, $gl = 15$, $p < 0,05$) (Figura 11).

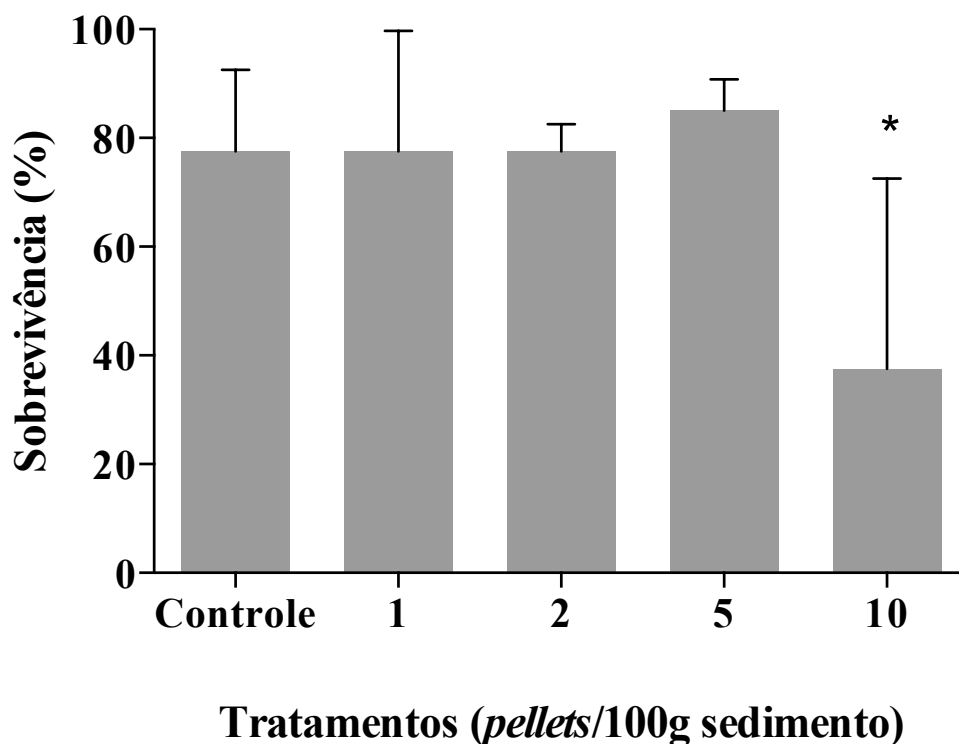


Figura 11. Toxicidade aguda de mortalidade de adultos de *Tiburonella viscana* em diferentes densidades de *pellets* de praia (*pellets*/100g de sedimento). *Tratamentos que apresentaram

toxicidade crônica para os organismos ($p < 0,05$), quando comparados aos respectivos controles de exposição (ANOVA - 1 fator).

Em ambos os testes realizados nesta segunda bateria, os tratamentos não apresentaram toxicidade de *pellets* para os organismos em nenhuma densidade (ANOVA - 2 fatores, tratamento, $F = 5,25$, $gl = 4$, $p = 0,068$) (Figura 12). O fator Tempo apresentou diferença entre os dois testes (ANOVA - 2 fatores: Tempo, $F = 20,64$, $gl = 1$, $p < 0,05$, Tukey post-hoc), representando apenas uma maior mortalidade média dos organismos adultos no segundo teste (Figura 13) e não toxicidade.

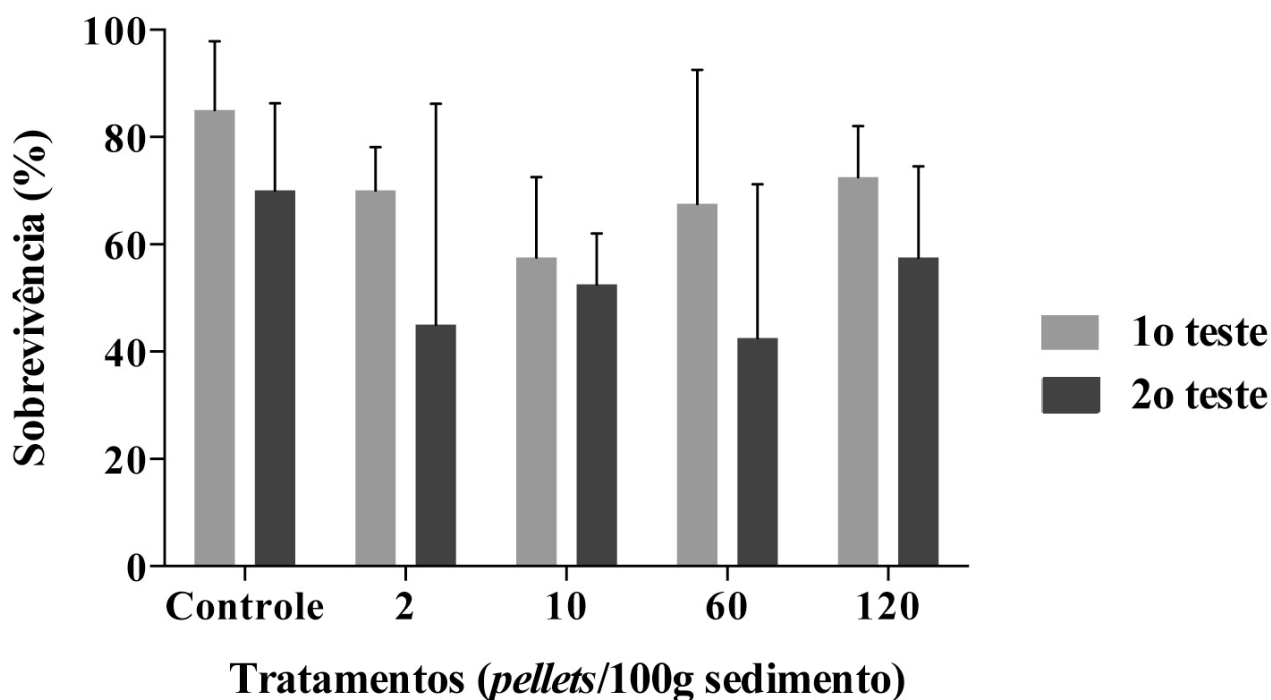


Figura 12. Toxicidade aguda de mortalidade de adultos de *Tiburonella viscana* em diferentes densidades de *pellets* de praia (*pellets*/100g de sedimento) e dois diferentes momentos (diferentes ensaios).

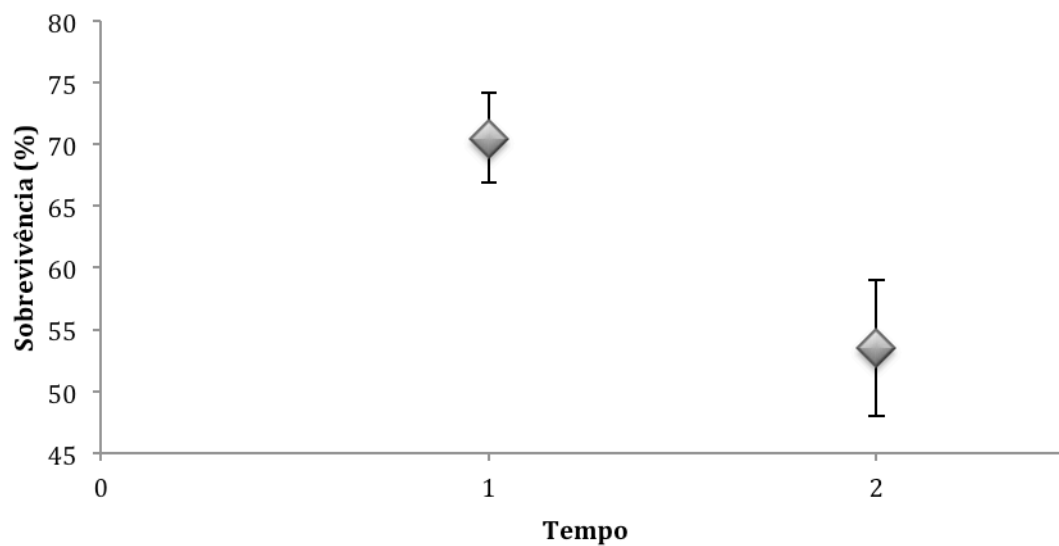


Figura 13. Médias de sobrevivência de adultos de *Tiburonella viscana* nos dois testes de toxicidade aguda realizados com as maiores densidades de *pellets* encontradas e seus respectivos intervalos de confiança.

4. DISCUSSÃO

A distribuição de *pellets* na zona costeira é maior nas proximidades de áreas portuárias com atividades de transporte de *pellets*, mesmo também sendo possível de se encontrar *pellets* em regiões mais afastadas. A toxicidade não ingerida foi encontrada apenas em quantidades extremamente altas, não representando as densidades já encontradas em praias. No entanto, a toxicidade crônica encontrada desperta uma preocupação ecológica, uma vez que os possíveis impactos deste lixo marinho tendem a ser na prole, comprometendo a estrutura e qualidade das futuras populações. Não foi possível integração entre as densidades encontradas nas praias do litoral de São Paulo e a toxicidade, uma vez que as altas densidades das praias não necessariamente conferem toxicidade aos organismos, sugerindo uma possível influência da composição e carga química de cada *pellet* individual do que a abundância dos mesmos para a toxicidade.

Os padrões de distribuição de *pellets* encontrados neste trabalho corroboram com os estudos de Heo *et al.* (2013), Thornton & Jackson, 1998, Zurcher (2009), Turner & Holmes (2011) e Turra *et al.* (2014) com maior abundância total (0-25 cm de profundidade) de *pellets* no Supra Litoral, no limite máximo da linha de costa. Contudo, este padrão não foi possível de ser observado nos 5 cm superficiais de sedimento, que apresentou maior abundância de *pellets* na Linha de Deixa, porém com uma variabilidade muito grande entre as réplicas. Tal variabilidade pode ser atribuída a alta dinâmica da Linha de Deixa pela ação de marés e ondas, que acaba por realizar uma constante lavagem, retirando e movimentando os *pellets* presentes nesta porção praial. Com isso, seguindo o que foi proposto nos trabalhos já citados neste parágrafo, e confirmado neste trabalho, foi escolhida o Limite Máximo Superior do Supra Litoral como melhor porção para amostragem de densidade de *pellets* em praias arenosas, com maior abundância de *pellets*, menor variabilidade entre as réplicas e por melhor representar o *stand stock* de *pellets* em praias arenosas.

Foi possível observar a existência de um gradiente decrescente da densidade de *pellets* no litoral de São Paulo, partindo do Porto de Santos, mesmo com as limitações de replicagem temporal e coleta de *pellets* da amostragem realizada. Grandes densidades de *pellets* foram encontradas nas praias dentro da Baía de Santos e em suas proximidades, diminuindo a quantidade de *pellets* nas praias tanto para norte, quanto para sul. A relação entre densidade de *pellets* e distância da praia do Porto de Santos pode ter sofrido influência de fatores não testados neste trabalho (vento, correntes superficiais, posição geográfica). Tendo a direção dos giros oceânicos e das correntes superficiais como fatores importantes para a distribuição de microplásticos (Gregory, 1983; Kukulka *et al.*, 2012; Hidalgo-Ruz & Thiel, 2013; Santos *et al.*, 2009), era esperado uma maior densidade de *pellets* nas praias afastadas localizadas a sul do Porto de Santos, pela predominância das correntes litorâneas da região em sentido sudoeste. No entanto, mesmo com as médias das praias do norte do Porto de Santos sendo maiores que as médias das praias do sul, apenas as praias de dentro da Baía de Santos

apresentaram diferença na densidade de *pellets* das demais, sugerindo uma provável influência geográfica para a distribuição de *pellets* na região costeira.

No caso da Baía de Santos, os padrões de correntes de superfície e dispersão no interior da baía e no Porto de Santos sugerem uma influência deste fator para a dispersão de *pellets* também. No interior da baía as correntes superficiais rumam predominantemente para sudoeste na saída do porto, em uma circulação anticiclônica rumando para nordeste na saída da baía (Harari & Gordon, 2001). Com isso, considerando estes padrões, é esperado uma maior densidade de *pellets* nas praias localizadas no oeste e sudoeste da baía, como é o caso da praia de Itaquitanduva, e uma densidade menor nas praias ao norte e nordeste da baía, como é o caso da praia de Santos (Turra *et al.*, 2014). Já o caso da praia do Góes, apesar de ser uma praia no leste da baía, esta está situada bem na saída do canal do Porto de Santos, fato que pode contribuir com a dispersão de *pellets* pela dinâmica do aporte de água doce e a passagem deste rio pela zona industrial de Cubatão (Vianello *et al.*, 2013; Castañeda *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2009), além de ser uma praia a favor dos ventos predominantes da região, sul-sudeste. Ventos também apresentam-se como um possível fator de influência, mesmo com os resultados de Browne *et al.* (2010) não apresentando padrões muito claros para dispersão de microplásticos para praias a favor do vento, já foi sugerido em diversos outros trabalhos que a direção do vento possui influência quase que direta na dispersão de *pellets* e microplásticos flutuantes na coluna d'água para as praias e linha de costa (Kukulka *et al.*, 2012; Thornton & Jackson, 1998; Kim *et al.*, 2015; Ross *et al.*, 1991; Heo *et al.*, 2013; Ivar do Sul *et al.*, 2009; Kaberi *et al.*, 2013), por ter ação direta nas correntes superficiais (Colling, 2001). A densidade populacional da região também pode ser um fator de influência na distribuição de microplásticos (Browne *et al.*, 2011; Depledge *et al.*, 2013), porém, para *pellets*, mesmo observada esta relação neste trabalho, acaba sendo um acaso ou uma relação indireta, uma vez que é comum que áreas portuárias e industriais, como a região da Baixada Santista, possuam uma maior densidade populacional por conta de seu desenvolvimento metropolitano e a oferta de trabalho.

O fato é que a distância da fonte emissora aparenta ser um fator importante para a distribuição de *pellets*, mas não o principal, podendo ser influenciado por outros fatores não testados neste trabalho, como a direção das correntes superficiais e ventos predominantes na região e a forma litorânea em que a praia está situada.

Mesmo com a uniformidade de unidades e amostragem da literatura, e a dificuldade em se comparar resultados de diferentes trabalhos, foi realizada uma extrapolação (Turra *et al.*, 2014) das densidades de *pellets* encontradas neste trabalho e algumas densidades encontradas na literatura, em uma tentativa de se obter uma comparação do litoral paulista com a realidade mundial (Figura 14). A extrapolação realizada pode não representar fielmente as realidades de densidade de *pellets* na comparação, uma vez que a amostragem de cada trabalho não foi padronizada, sendo realizada com

diferente métodos e em diferentes regiões praias, podendo mascarar a real densidade de *pellets* nas praias. No entanto, mesmo com estas dificuldades, os dados deste trabalho foram amostrados na região com, teoricamente, maior acúmulo de *pellets* em praias, sendo assim, as interferências de diferentes métodos na extrapolação será para menos e não para mais, o que permite se ter ideia de como as densidades do litoral paulista se encaixam no contexto mundial.

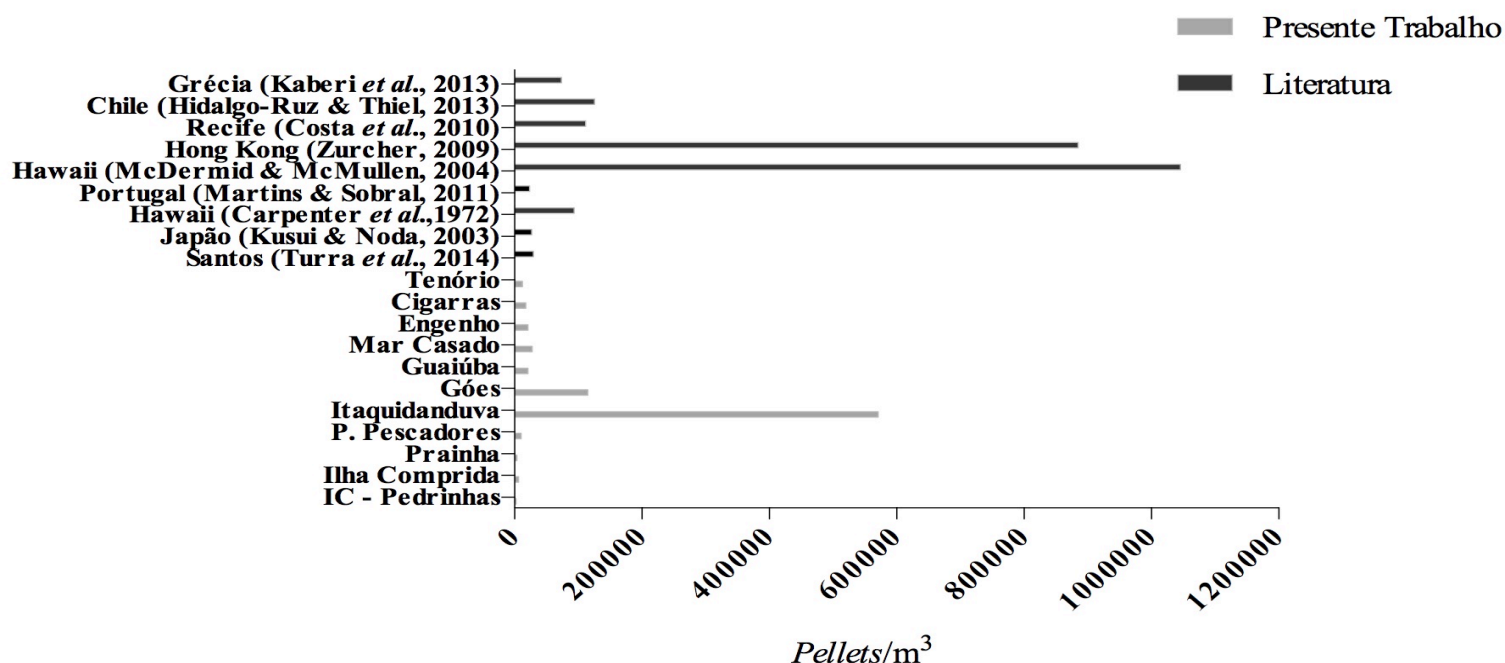


Figura 14. Comparação das densidades de *pellets* encontrados nas praias do presente estudo e em praias do mundo, seguindo a extrapolação proposta por Turra *et al.* (2014) para 2 metros de profundidade. Em cada estudo foi utilizada a praia com maior densidade encontrada para a extrapolação.

Na comparação com a literatura, as duas praias deste trabalho localizadas dentro da Baía de Santos (Góes e Itaquitanduva) apresentaram altas densidades, sendo que a praia de Itaquitanduva apresentou a terceira maior densidade já encontrada em praias do mundo, ficando atrás apenas de Havaí (McDermid & McMullen, 2004) e Hong Kong (Zurcher, 2009). Exemplificando a dificuldade de se comparar as densidades da literatura, a densidade encontrada por Turra *et al.* (2014) na praia de Santos, praia também localizada dentro da Baía de Santos, foi 3 vezes menor do que a densidade da praia do Góes e 19 vezes menor do que a densidade da praia de Itaquitanduva, e foi próxima a densidades de praias afastadas mais de 50 km do Porto de Santos e fora da Baía de Santos. Tal fato pode estar relacionado ao método de amostragem realizado por Turra *et al.* (2014), abrangendo toda a praia, e não se atendo apenas ao Supra Litoral, consequentemente, diminuindo a densidade média encontrada.

Por fim, a zona portuária de Santos, que abriga o maior porto da América Latina, se apresentou como uma importante fonte de *pellets* para o litoral paulista, com as maiores densidades

encontradas nas praias do litoral, com as duas praias dentro da Baía de Santos entre as maiores densidades já encontradas no mundo, corroborando com o que foi encontrado por Colton (1974), Ross *et al.* (1991) e Claessens *et al.* (2011), em que zonas portuárias são grandes áreas de abundância de microplásticos no ambiente costeiro. Trabalhos que encontram grandes abundâncias em regiões remotas, afastadas de zonas portuárias e industriais (Gregory 1983, 1999; McDermid & McMullen, 2004), evidenciam a importância de outros fatores, como as correntes marinhas, para a dispersão deste tipo de lixo marinho.

As toxicidades encontradas no litoral de São Paulo não apresentaram toxicidade para *T. viscana*, nem a maior densidade já encontrada na literatura. Foi encontrada toxicidade apenas nos testes crônicos, com *L. vareigatus* e *Nitokra* sp., e em densidades extremamente altas, ainda não encontradas no ambiente costeiro. Fato que gera uma preocupação sobre impactos ecológicos nas futuras gerações de organismos marinhos e em suas estruturas populacionais, e pode ter mascarado os efeitos das densidades do litoral paulista, uma vez que o teste realizado foi um teste de efeito agudo.

A toxicidade aguda de *pellets* para *T. viscana* não depende da densidade de *pellets* expostos, e pode estar relacionada com a variação da concentração de contaminantes adsorvidos em cada *pellets*, podendo ser um fator de maior influência para toxicidade dos *pellets*. A não ocorrência de toxicidade aguda para as densidades de *pellets* testadas, sugere que apenas a presença destas partículas plásticas no ambiente marinho, seja na água do mar ou no sedimento, pode não ser capaz de liberar seus compostos adsorvidos para o meio e conferir toxicidade aguda para os organismos marinhos. Resultado semelhante pode ser observado nos trabalhos de Browne *et al.* (2013) e Chua *et al.* (2014), no qual as altas concentrações de poluentes orgânicos nos *pellets*, pode ter diminuído a biodisponibilidade deste contaminantes para os organismos testados. Sendo assim, não foi possível determinar uma densidade limite para efeito toxicológico agudo para *T. viscana*, sendo que para as densidades encontradas no litoral de São Paulo, os *pellets* aparentam não representar perigo toxicológico agudo para os organismo marinhos testados.

Ao contrário do que era esperado, considerando os resultados de Nobre *et al.* (2015) com maior toxicidade crônica para *pellets* virgens (que seriam correspondente aos *pellets* brancos deste estudo) para *L. variegatus*, essa diferença não foi encontrada em nenhum dos testes deste trabalho. Isto sugere uma perda de toxicidade dos *pellets* virgens ao longo do tempo no ambiente natural, pois sabe-se que alguns aditivos industriais sofrem rápida biodegradação ao serem dissociados e liberados no ambiente marinho (Teuten *et al.*, 2009). A longa permanência dos *pellets* no ambiente costeiro pode resultar também em uma alta degradação dos mesmos, aumentando sua área de superfície, consequentemente aumentando sua capacidade de adsorção de contaminantes hidrofóbicos (Endo *et al.*, 2005; Ogata *et al.*, 2009). Portanto, por se tratar de *pellets* de praia, tanto a perda de aditivos

quanto a adsorção de novos compostos podem ter influenciado na igualdade tóxica de ambas as cores testadas, mesmo com a tendência de *pellets* amarelados possuírem maior concentração de POPs adsorvidos (Endo *et al.*, 2005).

O local de coleta dos *pellets* teve influência para a toxicidade em ambos os testes, *L. variegatus* e *Nitokra* sp., mesmo com o teste de *Nitokra* sp. apresentando toxicidade crônica para *pellets* de todas as praias testadas. Seguindo o proposto por Mato *et al.* (2002) e Endo *et al.* (2005) da utilização de *pellets* como indicadores de poluição marinha com relações com a contaminação local, era esperado uma maior toxicidade nas praias localizadas na região da Baía de Santos, local historicamente contaminado. Este padrão foi obtido no ensaio com *Nitokra* sp., entretanto, não se repetiu no ensaio com *L. variegatus*, não sendo possível relacionar a toxicidade dos *pellets* com a contaminação local. Observando apenas os resultados da praia de Itaquitanduva para *L. variegatus*, na qual era esperado toxicidade pela sua localização e densidade de *pellets* encontrada, é possível que a alta energia da praia possa ter influenciado na não toxicidade crônica de seus *pellets*. Assim como os resultados de Nobre *et al.* (2015) para o ensaio elutriado, a agitação e os processos turbulentos ocasionados pela ação contínua das ondas na praia (similar a agitação do elutriado) pode ter aumentado a volatilização de alguns contaminantes liberados pelos *pellets* coletados (Cesar *et al.*, 2004; Moore, 2008), conferindo menos capacidade tóxica aos *pellets* coletados nesta praia. Dessa forma, a energia da praia pode ser um fator de influência a ser considerado para a toxicidade de *pellets* de praia. Outra possível explicação seria a capacidade dos *pellets* de transportar a contaminação local para localidades mais afastadas, conforme exemplificado no trabalho de Taniguchi *et al.* (2016), com altas cargas de PCB em *pellets* de uma praia de região controle (Itaguaré), mesmo com concentrações de HPAs, DDTs e PCBs seguindo padrões bem definidos de maiores concentrações na região com histórico de contaminação (Santos e Guarujá). A toxicidade da praia do Góes chama atenção por ser alta em ambos os testes realizados, podem representar um potencial foco de toxicidade de *pellets* na região da Baixada Santista, que necessita ser melhor compreendido. A diferença de toxicidade entre os dois organismos testados pode ser reflexo da forma de exposição dos *pellets*, em exposição direta para *Nitokra* sp. e com rede contentora, separando os *pellets* dos organismos, para *L. variegatus*, colocando também a forma de exposição dos *pellets* como um fator de influência para a toxicidade dos *pellets*, com uma tendência de *pellets* em contato direto com os organismos apresentarem maior toxicidade.

De maneira geral, *pellets* foram capazes de conferir toxicidade crônica para os organismos marinhos testados neste estudo, quando expostos a grande quantidade de *pellets*. Efeitos agudos não foram significativos, de modo que sugere-se que os contaminantes associados aos *pellets* não apresentam perigos imediatos aos organismos testados em exposição não ingerida, mas sim perigos futuros para as demais gerações e, conseqüentemente, para a manutenção ecológica da população. A

alta variabilidade da concentração de contaminantes em cada *pellets* não foi possível de ser testada neste trabalho, podendo ser o principal fator que confere toxicidade aguda para os *pellets* de praia, e não a densidade dos mesmos. Diferentemente da ingestão, na qual os contaminantes encontram um ambiente favorável para a dessorção (Teuten *et al.*, 2009), na exposição não ingerida os contaminantes adsorvidos nos *pellets* podem permanecer inertes, ou em dessorção muito lenta, não se apresentando em concentrações suficiente para conferir toxicidade aguda para os organismos testados. A coloração branca não apresentou diferença do grupo das demais colorações na toxicidade, ao contrário do que era esperado, seguindo os resultados de Nobre *et al.*(2015). Entretanto, o local de coleta de *pellets* se apresentou como um importante fator para a toxicidade, com uma tendência da toxicidade refletir a contaminação local, como sugerido na hipótese deste trabalho. Toxicidade também pode ser encontrada em *pellets* coletados em regiões com menores níveis de contaminação local, confirmando a capacidade dos *pellets* de transportarem contaminantes para regiões remotas e livre de contaminação.

Este trabalho contribuiu com informações relevantes sobre a dinâmica de dispersão de *pellets* em ambientes costeiros, confirmando a existência de uma relação entre a densidade de *pellets* praias e a distância da fonte emissora, apesar das limitações encontradas pelos métodos de amostragem. Sugere também a influência de outros fatores, como vento e correntes superficiais, para esta dispersão. *Pellets* são capazes de conferir toxicidade crônica para organismos marinhos em altas densidades, porém em densidades muito maiores do que as encontradas no ambiente costeiro. A grande lacuna que fica para futuros trabalhos é em relação a carga e composição química de cada *pellet* em individual poder ser o principal responsável pela toxicidade não ingerida para organismos marinhos, e não a quantidade de *pellets* exposta, como foi testado neste trabalho.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Ecotoxicologia Aquática. – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com Ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**. Rio de Janeiro. NBR 15350, 2012.

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT/NBR 15638:2008. **Qualidade da Água – Determinação da toxicidade aguda de sedimentos marinhos ou estuarinos com anfípodos**. 2008. 17p.

ANDRADY, A. L.; Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, pp.1596–1605, 2011.

ANTUNES, J. C.; FRIAS, J. G. L.; MICAELLO, A. C.; SOBRAL, P.; Resin pellets from beaches of the Portuguese coast and adsorbed persistent organic pollutants. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 130, pp. 62-69, 2013.

ARAÚJO, G. S.; MOREIRA, L. B.; MORAIS, R. D.; DAVANSO, M. B.; GARCIA, T. F.; CRUZ, A. C. F.; ABESSA, D. M. S.; Ecotoxicological assessment of sediments from an urban marine protected area (Xixová-Japuí State Park, SP, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, in press: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.005>

ABIPLAST. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO. **Perfil 2014**. 2014. 37p.

AUMAN, H. J.; LUDWIG, J. P.; GIESY, J. P.; COLBORN, T.; Plastic ingestion by Laysan Albatross chicks on Sand Island, Midway Atoll, in 1994 and 1995. **Albatross Biology and Conservation**, pp. 239-244, 1997.

AZEVEDO, J. S.; BRAGA, E. S.; Caracterização hidroquímica para qualificação ambiental dos estuários de Santos-São Vicente e Cananéia. **Arquivos de Ciência.do Mar**, Fortaleza, v.44, n.2, pp.52 - 61, 2011.

BAIRD, R. W.; HOOKER, S. K.; Ingestion of plastic and unusual prey by a juvenile harbour porpoise. **Marine Pollution Bulletin**, v.40, n.8, pp.719-720, 2000.

BARNES, D. K. A; GALGANI F.; THOMPSON, R. C.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, pp.1985-1998, 2009.

- BARNES, D. K. A.; Invasions by marine life on plastic debris. **Nature**, v. 416, pp.808-809, 2002.
- BARNES, D. K. A.; MILNER, P.; Drifting plastic and its consequences for sessile organism dispersal in the Atlantic Ocean. **Marine Biology**, v.146, pp.815–825, 2005.
- BEJGARN, S.; MACLEOD, M.; BOGDAL, C.; BREITHOLTZ, M.; Toxicity of leachate from weathering plastics: An exploratory screening study with *Nitocra spinipes*. **Chemosphere**, v. 132, pp. 114-119, 2015.
- BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B.; LAGUEUX, C. J.; Ingestion of Marine Debris by Juvenile Sea Turtles in Coastal Florida Habitats. **Marine Pollution Bulletin**, v.28, n.3, pp.154-158, 1994.
- BROWNE, M. A.; NIVEN, S. J.; GALLOWAY, T. S.; ROWLAND, S. J.; THOMPSON, R. C.; Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. **Current Biology**, v. 23, n. 23, pp. 2388-2392, 2013.
- BROWNE, M. A.; CRUMP, P.; NIVEN, S. J.; TEUTEN, E.; TONKIN, A.; GALLOWAY, T. S.; THOMPSON, R. C.; Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. **Environmental science & technology**, v.45, n.21, pp.9175-9179, 2011. <http://dx.doi.org/10.2021/es201811s>.
- BROWNE, M. A.; GALLOWAY, T. S.; THOMPSON, R. C.; Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. **Environmental Science & Technology**, v.44, n.9, pp.3404-3409, 2010. <http://dx.doi.org/10.1021/es903784e>.
- CARPENTER E. J., SMITH, JR, K. L.; Plastics on the Sargasso Sea Surface **Science**, v. 175, pp.1240-1241, 1972.
- CARSON, H. S.; COLBERT, S. L.; KAYLOR, M. J.; MCDERMID, K. J.; Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 8, pp. 1708-1713, 2011.
- CASTAÑEDA, R. A.; AVLIJAS, S.; SIMARD, M. A.; RICCIARDI, A.; Microplastic pollution in St. Lawrence river sediments. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.71, n.12, pp.1767-1771, 2014. <http://dx.doi.org/10.1139/cjfas-2014-0281>.
- CESAR, A.; MARÍN-GUIRAO, L.; VITA, R.; MARÍN, A.; Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portman Bay. **Scientia Marina**, v. 68, n. S1, pp. 205-213, 2004.

CHESHIRE, A. C.; ADLER, E.; BARBIÈRE, J.; COHEN, Y.; EVANS, S.; JARAYABHAND, S.; JEFTIC, L.; JUNG, R. T.; KINSEY, S.; KUSUI, E. T.; LAVINE, I.; MANYARA, P.; OOSTERBAAN, L.; PEREIRA, M. A.; SHEAVLY, S.; TKALIN, A.; ARADARAJAN, S.; WENNEKER, B.; WESTPHALEN, G.; **UNEP/IOC Guidelines on survey and monitoring of marine litter**, UNEP regional seas reports and studies. 2009. 131p.

CHUA, E. M.; SHIMETA, J.; NUGEGODA, D.; MORRISON, P. D.; CLARKE, B. O.; Assimilation of polybrominated diphenyl ethers from microplastics by the marine amphipod, *Allorchestes compressa*. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 14, pp. 8127-8134, 2014.

CLAESSENS, M.; DE MEESTER, S.; VAN LANDUYT, L.; DE CLERCK, K.; JANSSEN, C. R.; Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, n.10, pp.2199-2204, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>.

COLLING, A. A. **Ocean Circulation**, 2nd ed. **Open University Oceanography Course Team**, Butterworth-Heinemann, 2001. 286 pp.

COLTON JR., J. B.; Plastics in the ocean. **Oceanus**, v.18, n.1, pp.61–64, 1974.

COOPER, D. A.; CORCORAN, P. L.; Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, pp. 650-654, 2010.

COSTA, M. F.; IVAR DO SUL, J. A.; SILVA-CAVALCANTI, J. S.; ARAÚJO, M. C. B.; SPENGLER, A.; TOURINHO, P. S.; On the importance of size of plastic fragments and *pellets* on the strandline: a snapshot of a Brazilian beach. **Environment Monitoring Assessment**, v. 168, pp. 299-304, 2010.

DAVANSO, M. B.; **Avaliação da toxicidade da água intersticial e elutriados extraídos de sedimentos no sistema estuarino de Santos: canal de dragagem do porto de Santos e área de disposição**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual Paulista - UNESP, São Vicente, 2006.

DAVISON, P.; ASCH, R. G.; Plastic ingestion by mesopelagic fishes in the North Pacific Subtropical Gyre. **Marine Ecology Progress Series**. v. 432, pp. 173-180, 2011.

DAY, R. H.; SHAW, D. G.; IGNEILL, S. E.; The quantitative distribution and characteristics of neuston plastic in the North Pacific Ocean, 1985-88. **Proceedings** of the Second International

Conference on Marine Debris, 2-7 April 1989. Honolulu, Hawaii. Memo. NHFS. NOM-TM-NMFS-SWFSC-154. 1990. U.S. Dep. Comer.. NOAA Tech.

DERRAIK, J. G. B.; The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, pp.842–852, 2002.

ENDO, S.; TAKIZAWA, R.; OKUDA, K.; TAKADA, H.; CHIBA, K.; KANEHIRO, H.; OGI, H.; YAMASHITA, R.; DATE, T.; Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, pp. 1103–1114, 2005.

FARRELL, P.; NELSON, K.; Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). **Environmental Pollution**, v. 177, pp. 1-3, 2013.

FENILI, L. H.; **Qualidade do sedimento do canal de navegação do Porto de Santos (Santos, SP) após dragagem de aprofundamento: ensaios ecotoxicológicos com *Tiburonella viscana* e *Nitokra* sp.** Dissertação de mestrado em engenharia ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

FERRAZ, M. A.; **Desenvolvimento e aplicação de um método para a avaliação e identificação da toxicidade usando o organismo bentônico *nitocra* sp (crustacea: copepoda: harpacticoida).** Dissertação de mestrado em ecologia. Universidade Santa Cecília, Santos, 2013.

FISNER, M.; TANIGUCHI, S.; MAJER, A. P.; BÍCEGO, M.C.; TURRA, A.; Concentration and composition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plastic pellets: implications for small-scale diagnostic and environmental monitoring. **Marine Pollution Bulletin**, v.76, pp.349–354, 2013.

GORDON, M.; Eliminating Land-based Discharges of Marine Debris in California: A Plan of Action from The Plastic Debris Project. **California Coastal Commission**. 2006

GREGORY, M. R.; Accumulation and distribution of virgin plastic granules on New Zealand beaches. **N.Z. Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 12, n. 4, pp. 399-414, 1978.

GREGORY, M. R.; Virgin Plastic Granules on Some Beaches of Eastern Canada and Bermuda. **Marine Environmental Research**, v. 10, pp.73-92, 1983.

GREGORY, M. R.; Plastics and South Pacific island shores: environmental implications. **Ocean and Coastal Management**, v.42, pp.603–615, 1999.

HAMMER J.; KRAAK, M. H. S.; PARSONS, J. R.; Plastics in the Marine Environment: The Dark Side of a Modern Gift. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 220, 2012.

HARARI, J.; GORDON, M.; Simulações Numéricas da Dispersão de Substâncias no Porto e Baía de Santos, sob a Ação de Marés e Ventos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 4, p. 115-131, 2001.

HEO, N. W.; HONG, S. H.; HAN, G. M.; HONG, S.; LEE, J.; SONG, Y. K.; JANG, M.; SHIM, W. J.; Distribution of small plastic debris in cross-section and high strandline on Heungnam Beach, South Korea. **Ocean Science Journal**, v.48, n.2, pp.225-233, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s12601-013-0019-9>.

HESKETT, M.; TAKADA, H.; YAMASHITA, R.; YUYAMA, M.; ITO, M.; GEOK, Y. B.; OGATA, Y.; KWAN, C.; HECKHAUSEN, A.; TAYLOR, H.; POWELL, T.; MORISHIGE, C.; YOUNG, D.; PATTERSON, H.; ROBERTSON, B.; BAILEY, E.; MERMOZ, J.; Measurement of persistent organic pollutants (POPs) in plastic resin pellets from remote islands: Toward establishment of background concentrations for International Pellet Watch. **Marine Pollution Bulletin**, v.64, pp. 445–448, 2012.

HIDALGO-RUZ, V.; THIEL, M.; Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): A study supported by a citizen science project. **Marine Environmental Research**, v. 87, pp. 12-18, 2013.

HIDALGO-RUZ, V.; GUTOW, L.; THOMPSON, R. C.; THIEL, M.; Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. **Environmental Science & Technology**, v.46, pp.3060–3075, 2012.

HIRAI, H.; TAKADA, H.; OGATA, Y.; YAMASHITA, R.; MIZUKAWA, K.; SAHA, M.; KWAN, C.; MOORE, C.; GRAY, G.; LAURSEN, D.; ZETTLER, E. R.; FARRINGTON, J. W.; REDDY, C. M.; PEACOCK, E. E.; WARD, M. W.; Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, pp.1683–1692, 2011.

HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E.; ABESSA, D. M.; SOUSA, E. C. P. M.; Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do Estuário Santos-São Vicente. **Química Nova**, v.31, n.1, pp.10-19, 2008.

INTERNATIONAL PELLETS WATCH. **What's plastic resin pellet?** Disponível em: <<http://www.pelletwatch.org/en/what.html>>. Acesso em: 17 de abril de 2014.

IVAR DO SUL, J. A.; SPENGLER, A.; COSTA, M. F.; Here, there and everywhere. Small plastic fragments and pellets on beaches of Fernando de Noronha (Equatorial Western Atlantic). **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 8, pp. 1236-1238, 2009. doi:10.1016/j.marpolbul.2009.05.004.

KABERI, H.; TSANGARIS, C.; ZERI, C.; MOUSDIS, G.; PAPADOPOULOS, A.; STREFTARIS, N.; Microplastics along the shoreline of a Greek island (Kea isl., Aegean Sea): types and densities in relation to beach orientation, characteristics and proximity to sources. In: **4th International Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics (CEMEPE) and SECOTOX Conference**, Mykonos Island, Greece. 2013. pp. 197-202.

KARAPANAGIOTI, H. K.; KLONTZA, I.; Investigating the properties of plastic resin pellets found in the coastal areas of Lesbos Island. **Global NEST Journal**, v. 9, n. 1, pp. 71-76, 2007.

KHORDAGUI, H. K.; ABU-HILAL, A. H.; Industrial plastic on the southern beaches of the Arabian Gulf and the western beaches of the Gulf of Oman. **Environmental Pollution**, v. 84, n. 3, pp. 325-327, 1994.

KIM, I. S.; CHAE, D. H.; KIM, S. K.; CHOI, S.; WOO, S. B.; Factors influencing the spatial variation of microplastics on high-tidal coastal beaches in Korea. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.69, n.3, pp.299-309, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-015-0155-6>

KOCH, H. M.; CALAFAT, A. M.; Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, pp. 2063–2078, 2009.

KUKULKA, T.; PROSKUROWSKI, G.; MORÉT-FERGUSON, S.; MEYER, D. W.; LAW, K. L.; The effect of wind mixing on the vertical distribution of buoyant plastic debris. **Geophysical Research Letters**, v. 39, L07601. 2012.

KUSUI, T.; NODA, M.; International survey on the distribution of stranded and buried litter on beaches along the Sea of Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, pp. 175–179, 2003.

LAIST, D. W.; Overview of the Biological Effects of Lost and Discarded Plastic Debris in the Marine Environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 18, n. 6B, pp. 319-326, 1987.

LI, H. X.; GETZINGER, G. J.; FERGUSON, P. L.; ORIHUELA, B.; ZHU, M.; RITTSCHOF, D.; Effects of Toxic Leachate from Commercial Plastics on Larval Survival and Settlement of the Barnacle *Amphibalanus amphitrite*. **Environmental science & technology**, v. 50, v. 2, pp. 924-931, 2015.

LIEBEZEIT G.; DUBAISH F.; Microplastics in Beaches of the East Frisian Islands Spiekeroog and Kachelotplate. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicological**, v. 70, n. 1, 2012.

LOTUFO, G. R.; ABESSA, D. M. S. Testes de toxicidade com sedimento total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos. In: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M, NIPPER, M. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil**. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda, cap.13, 2002.

MAJER, A. P.; VEDOLIN, M. C.; TURRA, A.; Plastic pellets as oviposition site and means of dispersal for the ocean-skater insect Halobates. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64 (6), pp. 1143-1147, 2012.

MANZANO, A. B.; **Distribuição, taxa de entrada, composição química e identificação de fontes de grânulos plásticos na Enseada de Santos, SP, Brasil**. Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo, São Paulo 2009.

MARANHO, L. A.; DAVANSO, M. B.; ABESSA, D. M. S.; Avaliação da qualidade de sedimentos do porto de Santos: Determinação da toxicidade crônica e aguda. **Holos Environment**, v.8, n.2, 2008.

MARTINS, J.; SOBRAL, P.; Plastic marine debris on the Portuguese coastline: a matter of size? **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, pp. 1649-1653, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.028>.

MATO, Y.; ISOBE, T.; TAKADA, H.; KAHNEHIRO, H.; OHTAKE, C.; KAMINUMA, T.; Plastic Resin Pellets as a Transport Medium for Toxic Chemicals in the Marine Environment. **Environment Science Technology**, v. 35, pp.318-324, 2001.

MATO, Y.; TAKADA, H.; ZAKARIA, M. P.; KURIYAMA, Y.; KANEHIRO, H.; Toxic chemicals contained in plastic resin pellets in the marine environment—spatial difference in pollutant concentrations and the effects of resin type. **Environmental Science**, v.15, pp.415–423, 2002.

MCDERMID, K. J.; MCMULLEN, T. L.; Quantitative analysis of small-plastic debris on beaches in the Hawaiian archipelago. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, pp.790-794, 2004.

MDIC. MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO INDÚSTRIA E COMÉRCIO. SISTEMA DE ANÁLISE DAS INFORMAÇÕES DE COMÉRCIO EXTERIOR. Alice Web2. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 12 de Outubro de 2015.

MELO, S. L. R.; ABESSA, D. M. S.; Ensaio de ecotoxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos. In: Nascimento, I. A.; Souza, E. C. P. M.; Nipper M. G.. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo. pp. 163-178. 2002.

MENDES G. I.; **Poluição Marinha: Relações e influências de fatores físicos sobre a distribuição e a concentração de pellets em nove praias da Baixada Santista, São Paulo, Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Campus Experimental do Litoral Paulista, Universidade Estadual Paulista, São Vicente, 2012. 66 p.

MILIJÖ, A. **Marine Litter - Trash that Kills.** Risbergs Uddevalla, Sweden, 2001. 20p.

MIZUKAWA, K.; TAKADA, H.; ITO, M.; GEOK, Y. B.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; SAHA, M.; SUZUKI, S.; MIGUEZ, C.; FRIAS, J.; ANTUNES, J. C.; SOBRAL, P.; SANTOS, I.; MICAELLO, C.; FERREIRA, A. M.; Monitoring of a wide range of organic micropollutants on the Portuguese coast using plastic resin pellets. **Marine Pollution Bulletin**, v.70, pp.296–302, 2013.

MOORE, C. J.; Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. **Environmental research**, v. 108, n. 2, pp. 131-139, 2008.

MOORE, C. J., MOORE, S. L., LEECASTER, M. K.; WEISBERG, S. B.; A comparison of plastic and plankton in the North Pacific Central Gyre. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, pp. 1297–1300, 2001.

MOREIRA, L. B.; ABESSA D. M .S.; Water toxicity assessment of Santos Bay under different climate conditions. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 9, n. 1, pp. 51-57, 2014. *doi: 10.5132/eec.2014.01.007*

MOSER, M. L.; LEE, D. S.; Fourteen-Year Survey of Plastic Ingestion by Western North Atlantic Seabirds. **Colonial Waterbirds**, v. 15, n. 1, pp. 83-94, 1992.

NAS. National Academy of Sciences. **Marine litter. In: Assessing potential ocean pollutants.** A report of the Study Panel on Assessing Potential Ocean Pollutants to the Ocean Affairs Board, Commission on Natural Resources, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, DC. 1975. 465p.

NOAA. National Oceanic and Atmospheric Administration. **Plastic Marine Debris: What we know.** Disponível em: <<http://marinedebris.noaa.gov/info/plastic.html>> Acesso em 29 de Maio de 2014.

NOBRE, C. R., SANTANA, M. F. M., MALUF, A., CORTEZ, F. S., CESAR, A., PEREIRA, C. D. S., TURRA, A.; Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). **Marine Pollution Bulletin**, v. 92, pp. 99-104, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.050>

OGATA, Y.; TAKADA, H.; MIZUKAWA, K.; HIRAI, H.; IWASA, S.; ENDO, S.; MATO, Y.; SAHA, M.; OKUDA, K.; NAKASHIMA, A.; MURAKAMI, M.; ZURCHER, N.; BOOYATUMANONDO, R.; ZAKARIA, M. P.; DUNG, L. Q.; GORDON, M.; MIGUEZ, C.; SUZUKI, S.; MOORE, C.; KARAPANAGIOTI, H. K.; WEERTS, S.; MCCLURG, T.; BURREN, E.; SMITH, W.; VELKENBURG, M. V.; LANG, J. S.; LANG, R. C.; LAURSEN, D.; DANNER, B.; STEWARDSON, N.; THOMPSON, R. C.; International Pellet Watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal waters. 1. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs. **Marine Pollution Bulletin** v. 58, pp. 1437–1446, 2009.

PASARELLI, M. C.; **Avaliação e validação de anfípodes epibentônicos para aplicação em ensaios de toxicidade.** Dissertação de mestrado em ecologia. Universidade Santa Cecília, Santos, 2013.

PEREIRA, F. C.; OLIVEIRA, A. L.; TURRA, A.; Gestão de resíduos sólidos no ambiente marinho: pellets plásticos. **Anais do V Simpósio Brasileiro de Oceanografia**, Santos, SP, Brasil 2011.

PERINA, F. C.; **Avaliação da toxicidade de biocidas utilizados em tintas anti-incrustantes.** Dissertação de mestrado. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia. Rio Grande do Sul, 2009.

PERINA, F. C., ABESSA, D. M. S., PINHO, G. L. L., FILLMANN, G.; Comparative toxicity of antifouling compounds on the development of sea urchin. **Ecotoxicology**, v. 20, pp. 1870-1880, 2011. DOI 10.1007/s10646-011-0725-y

PIANOWSKI, F.; **Resíduos sólidos e esférulas plásticas nas praias do Rio Grande do Sul - Brasil.** Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Monografia em Oceanografia, Julho 1997.

PRUTER, A. T.; Sources, Quantities and Distribution of Persistent Plastics in the Marine Environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 18, n. 6B, pp. 305-310, 1987.

RITTER, L., SOLOMON, J. F.; A Review of Selected Persistent Organic Pollutants. **Inter-Organization: Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC)**. PCS/95.39. 1995.

ROSS, J. B.; PARKER, R.; STRICKLAND, M.; A survey of shoreline litter in Halifax Harbour 1989. **Marine Pollution Bulletin**, v.22, n.5, pp.245-248, 1991.

RYAN, P. G.; CONNELL, A. D.; GARDNER, B. D.; Plastic Ingestion and PCBs in Seabirds: Is There a Relationship? **Marine Pollution Bulletin**, v. 19, n. 4, pp.174-176, 1988.

SANDRINI-NETO, L. & CAMARGO, M. G.; GAD: an R package for ANOVA designs from general principles. **Disponível em CRAN**. 2011.

SANTOS, I. R.; FRIEDRICH, A. C.; IVAR DO SUL, J. A.; Marine debris contamination along undeveloped tropical beaches from northeast Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 148, n. 1-4, pp. 455-462, 2009.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**, 2^a ed., John Wiley & Sons, Inc.. 2003.

SCIENCE FOR ENVIRONMENT POLICY. In-depth Reports. **Plastic Waste: Ecological and Human Health Impacts**. DG Environment News Alert Service. European Commission. Environment, 2011. 44p.

SHIBER, J. G.; BARRALES-RIENDA, J. M.; Plastic Pellets, Tar, and Megalitter on Beirut Beaches, 1977-1988. **Environmental Pollution**, v. 71, pp.17-30, 1991.

SHIBER, J. G.; Plastic Pellets on Spain's 'Costa del Sol' Beaches. **Marine Pollution Bulletin**, v. 13, n. 12, pp. 409-412, 1982.

SIMPSON, S. L.; ANGEL, B. M.; JOLLEY, D. F.; Metal equilibration and bioavailability in laboratory-contaminated (spiked) sediments used for the development of whole-sediment toxicity tests. **Chemosphere**, v.54(5), pp.597-609, 2004.

SOUSA, E. C. P. M.; ZARONI, L. P.; GASPARRO, M. R.; PEREIRA, C. D. S.; Review of ecotoxicological studies of the marine and estuarine environments of the Baixada Santista (São Paulo, Brazil). **Brazilian Journal Of Oceanography**, v.62(2), pp.133-147, 2014. doi.org/10.1590/S1679-87592014063006202

SUGUIO, K. **Introdução a sedimentologia**. São Paulo: EDUSP, 1973. 312p.

TAKADA, H.; Call for pellets! International Pellet Watch Global Monitoring of POPs using beached plastic resin pellets. **Marine Pollution Bulletin**, v.52, pp.1547–1548. 2006.

TANIGUCHI, S.; COLABUONO, F. I.; DIAS, P. S.; OLIVEIRA, R.; FISNER, M.; TURRA, A.; M. IZAR, G. M.; ABESSA, D. M. S.; SAHA, M.; HOSODA, J.; YAMASHITA, R.; TAKADA, H.; LOURENÇO, R. A.; MAGALHÃES, C. A.; BÍCEGO, M. C.; MONTONE, R. C.; Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded

pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 106 n.1, pp. 87-94, 2016.

TEUTEN, E. L.; SAQUING, J. M.; KNAPPE, D. R. U.; BARLAZ, M. A.; JONSSON, S.; BJÖRN, A.; ROWLAND, S. J.; THOMPSON, R. C.; GALLOWAY, T. S.; YAMASHITA, R.; OCHI, D.; WATANUKI, Y.; MOORE, C.; VIET, P. H.; TANA, T. S.; PRUDENTE, M.; BOONYATUMANOND, R.; ZAKARIA, M. P.; AKKHAVONG, K.; OGATA, Y.; HIRAI, H.; IWASA, S.; MIZUKAWA, K.; HAGINO, Y.; IMAMURA, A.; SAHA, M.; TAKADA, H.; Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, pp. 2027-2045, 2009.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; VOM SAAL, F. S.; SWAN, S. H.; Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, pp. 2153-2166, 2009.

THOMPSON, R. C.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R. P.; DAVIS, A.; ROWLAND, S. J.; JOHN, A. W. G.; MCGONIGLE, D.; RUSSEL, A. E.; Lost at sea: where is all the plastic? **Science**, v. 304, p. 838, 2004.

THORNTON, L.; JACKSON, N. L.; Spatial and temporal variations in debris accumulation and composition on an estuarine shoreline, Cliffwood Beach, New Jersey, USA. **Marine Pollution Bulletin**, v.36(9), pp.705-711, 1998.

TOMÁS, J.; GUITART, R.; MATEO, R.; RAGA, J. A.; Marine debris ingestion in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, from the Western Mediterranean. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, pp.211–216, 2002.

TOURINHO, P. S.; IVAR DO SUL, J. A.; FILLMANN, G.; Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, pp. 396–401, 2010.

TURNER, A.; HOLMES, L.; Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta (central Mediterranean). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 2, pp. 377-381, 2011.

TURRA, A.; MANZANO, A. B.; DIAS, R. J. S.; MAHIQUES, M. M.; BARBOSA, L.; BALTHAZAR-SILVA, D.; MOREIRA, F. T.; Three-dimensional distribution of plastic pellets in sandy beaches: shifting paradigms. **Nature**, v. 4: 4435, 2014.

UNEP. United Nations Environment Programme. **Marine Litter, an analytical overview**. 2005. 58p.

UNEP. United Nations Environment Programme. Plastic Debris in the Ocean. **UNEP Year Book**, p.21-33. 2011.

USEPA. U.S. Environmental Protection Agency. **Technical Support Document for Water Quality-based Toxics Control**. EPA/505/2-90-001. Office of Water, Washington, DC. 1991.

VAN CAUWENBERGHE L., DEVRIESE L., GALGANI F., ROBBENS J., JANSSEN C. R.; Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. **Marine Environmental Research**, online, pp. 1-13, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>

VIANELLO, A.; BOLDRIN, A.; GUERRIERO, P.; MOSCHINO, V.; RELLEA, R.; STURARO, A.; DA ROS, L.; Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: first observations on occurrence, spatial patterns and identification. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.130, pp.54-61, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2013.03.022>.

WILBER, R. J.; Plastic in the North Atlantic. **Oceanus**, v. 30, n. 3, pp.61-68, 1987.

ZURCHER, N. A; Small plastic debris on beaches in Hong Kong: an initial investigation. **The HKU Scholars Hub** - The University of Hong Kong, 2009.